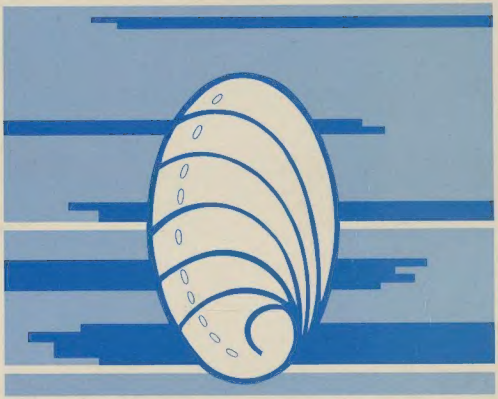
Pr 3966

Société Française de Malacologie

ASPECTS RÉCENTS de la BIOLOGIE des MOLLUSQUES



BREST
7-8 novembre 1990

BIBL. DU MUSÉUM PARIS

Actes de Colloques
n° 13 1991

HALIOTIS vol. 21 (1991)

IFREMER

ASPECTS RECENTS
de la
BIOLOGIE DES MOLLUSQUES

SOCIETE FRANCAISE DE MALACOLOGIE

La Société Française de Malacologie a été fondée le 29 janvier 1969. Elle compte 400 membres français et étrangers. Son but est d'encourager toute étude concernant les mollusques actuels et fossiles, de faciliter les relations entre les malacologistes et les documenter sur les recherches en cours dans les différents laboratoires français ou étrangers. L'association est dirigée par un conseil d'administration de douze membres élus pour trois années par l'assemblée générale ordinaire.

La Société édite une revue scientifique annuelle, *"Haliotis"*, qui est dotée d'un comité de lecture international et qui est indexée par le "Bulletin signalétique du CNRS", "Zoological Record" et "Referativniy Zhurnal". Les anciens numéros de *"Haliotis"* sont en vente au siège de la société.

Les demandes d'adhésion sont ratifiées par le conseil d'administration (se renseigner au siège de la société). Le montant annuel de la cotisation est de 200 F pour les personnes physiques (100 F pour les étudiants), 280 F pour les personnes morales (laboratoires, bibliothèques, librairies, sociétés...).

Chaque membre de la société reçoit : la revue *"Haliotis"*, des notes d'information et des circulaires bibliographiques.

Siège : Laboratoire de malacologie, Muséum national d'histoire naturelle, 55 rue de Buffon - 75005 Paris

CONSEIL d'ADMINISTRATION POUR 1990

Président :	**Marcel LE PENNEC,** Brest
Vice-Président :	**Philippe BOUCHET,** Paris
Secrétaire Général :	**Claude POIZAT,** Marseille
Secrétaire-Adjoint :	**Anne Marie REAL-TESTUD,** Paris
Trésorier :	**Bernard METIVIER,** Paris
Autres Membres :	**Patrick ARNAUD,** Marseille
	Alain BODOY, La Tremblade
	Eve BOUCAUD-CAMOU, Caen
	Jacques DAGUZAN, Rennes
	Serge GOFAS, Paris
	Georges RICHARD, Paris
	Nardo VICENTE, Marseille
Membres étrangers invités:	**Alan BEBBINGTON,** Royaume-Uni
	Joseph KUIPER, Pays-Bas
	Mathieu POULICEK, Belgique

Cet ouvrage, réalisé dans la série IFREMER "Actes de Colloques", correspond au volume n° 21 d' HALIOTIS - année 1991

R 3966

Société Française de Malacologie

ASPECTS RECENTS

de la

BIOLOGIE des MOLLUSQUES

VIII ème Congrès National
Brest – 7 et 8 novembre 1990

sous la direction de

Marcel Le PENNEC
Laboratoire de biologie marine
Université de Bretagne occidentale

BIBL. DU MUSÉUM PARIS

IFREMER

Société Française de Malacologie

ASPECTS RECENTS DE LA BIOLOGIE DES MOLLUSQUES

VIII ème Congrès National
Brest – 7 et 8 novembre 1990

Comité d'organisation
- *Marcel LE PENNEC, Michel AUFFRET, Alain MARHIC.*
- Collaboration : *Anne DONVAL, Sigit DWIONO, Alain LE MERCIER, Alain PAIMBENI, Stéphanie PLANA, Ita WIDOWATI. (Laboratoire de Biologie Marine, Institut d'Etudes Marines, Université de Bretagne Occidentale).*
- Secrétariat de l'Institut d'Etudes Marines (UBO).

Concours financier
- *Université de Bretagne Occidentale,*
- *Conseil Général du Finistère,*
- *C N R S,*
- *Ville de Brest et Communauté Urbaine,*
- *Ville de Plougastel-Daoulas.*

Support publicitaire
- *Crédit agricole,*
- *Ville de Brest,*
- *Océanopolis,*
- *Conseil Régional de Bretagne,*
- *Conseil Général du Finistère,*
- *O S I et A E S (équipements de laboratoires),*
- *Copytext (photocopieur),*
- *Guilbert (papeterie).*

Collaboration technique
- *Université de Bretagne Occidentale*
  - ** SAVUBO,*
  - ** UFR Médecine,*
  - ** UFR Sciences.*

Service de la Documentation et des Publications (SDP)
IFREMER – Centre de Brest
BP 70 – 29280 PLOUZANE
Tél. 98.22.40.13 – Fax 98. 22.45.45

ISBN 2-905434-39-2
ISSN 0761-3962

© Institut Français de Recherche pour l'Exploitation de la Mer, IFREMER, 1991

SOMMAIRE

ARTICLES ORIGINAUX

1 Bilan énergétique de la population de coque (*Cerastoderma edule* L.) en baie de Saint-Brieuc, Manche Ouest 7
M. Blanchard

2 Les réserves énergétiques de *Mytilus edulis* : comparaison des stratégies développées dans la baie de Gdansk (Pologne) et le bassin de Marennes-Oléron (France) 19
J.M.Deslous-Paoli, M.Wolowicz, et *S. Boromthanarat*

3 Reproduction et recrutement de la coque *Cerastoderma edule* L. à Saint-Pol-de-Léon (Bretagne-Nord) 29
J.Guillou et *C.Tartu*

4 La vitellogenèse chez *Patella coerulea* Lmk (Mollusque, Gastéropode). Approche ultrastructurale 39
N.Benmeradi

5 Etude expérimentale de la maturation ovocytaire chez *Pecten maximus* et *Crassostrea gigas* (Mollusca, Bivalvia) 47
I.Widowati, J.C.Cochard, G.Dorange et *M.Le Pennec*

6 Les relations trophiques anse intestinale-gonade chez *Pecten maximus* (Mollusque, Bivalve) 57
M.Le Pennec, G.Dorange, P.Beninger, A.Donval et *I.Widowati*

7 Modélisation de la croissance de *Ruditapes philippinarum* dans un système expérimental 71
A.Bensch, C.Bacher, J.P.Baud et *J.L.Martin*

8 Mesure de la rétention de *Skeletonema costatum* par *Ruditapes philippinarum* (Mollusque, Bivalve) en fonction de la longueur des colonies algales : principes méthodologiques 83
P.G.Sauriau et *J.P.Baud*

BIBL. DU MUSÉUM PARIS

9 Caractérisation des hémocytes d'un mollusque bivalve marin, la nacre, *Pinna nobilis* L. 1758 97
M.Henry, N.Vicente et *N.Houache*

10 Ultrastructure et activité de la glande salivaire de *Patella safiana* LmK (Mollusque, Gastéropode) 107
S.S.Benmeradi et *N.Benmeradi*

11 Recherches écophysiologiques sur l'escargot petit-gris (*Helix aspersa* Müller) en vue de son élevage 113
J.Daguzan

12 Données sur les gastéropodes dulcicoles de l'ouest de la France : mise en évidence de 5 groupes d'espèces 125
K.Costil-Fleury

13 Divergence génétique de quelques populations naturelles de *Cepaea nemoralis et Cepaea Hortensis* en France 135
A.Guiller et *L.Madec*

14 Le contrôle chimique et biologique de *Lymnaea truncatula* Müller. Etude des effets à long terme 147
D.Rondelaud

15 Les effets d'une infestation double : *Fasciola hepatica* L. *Muellerius capillaris* Müller sur la pathologie viscérale de *Lymnaea truncatula* Müller 155
P.Hourdin, D.Rondelaud et *J.Cabaret*

16 La réaction amibocytaire circulante et le tissu producteur chez quatre espèces de limnées lors d'une infestation par *Fasciola hepatica* L. 167
P.Sindou, D.Rondelaud. et *D.Barthélémy*

POSTERS

1 Localisation ultrastructurale d'organites lysosomaux dans des phagocytes de Mollusques Bivalves 177
M.Auffret

2 Fixation d'un anticorps anti-lysozyme dans des cellules de Mollusques Bivalves 178
M.Auffret, M.Diouris et *A. Herry*

3 Localisation immunohistochimique de peptides apparentes aux hormones de vertebrés chez *Pecten maximus* 179
A.Donval

4 Caractéristiques ultrastructurales du spermatozoïde de la coquille Saint-Jacques, *Pecten maximus* (Mollusque, Bivalve) 180
G.Dorange et *M. Le Pennec*

5 Premières études sur les cellules neurosecrétrices de *Lymnaea truncatula* Müller (Mollusque Gastéropode Pulmoné). Les effets d'une infestation par *Fasciola hepatica* L. 181
F. Esclaire et *D. Rondelaud*

6 Réponses des Bivalves de l'Atlantique Nord-Est aux changements climatiques 182
M.Glémarec

7 Stades de destruction des coquilles de *Patella* (Mollusque Gastéropode) sur l'estran et en milieu terrestre 183
Y.Gruet

8 La malacofaune marine d'un site néolithique de l'île d'Oléron (Charente-Maritime) : questions posées au biologiste 184
Y.Gruet et *L.Laporte*

9 Quelques peuplements malacologiques ayant contribué au comblements du marais poitevin actuel (Vendée et Charente-Maritime) 185
Y.Gruet et *P.G.Sauriau*

10 Les nodules rénaux de *Lymnaea truncatula* Müller
A propos de quelques observations lors d'infestation simples et doubles du mollusque par plusieurs parasites (*Fasciola hepatica* L., *Muellerius capillaris* Müller, *Neostrongylus linearis* Marotel) 186

P.Hourdin et *D.Rondelaud*

11 Etude expérimentale préliminaire sur les échanges gazeux chez *Pinna nobilis* (L.) 187

N.Vicente, A.Riva et *A.Butler*

Société Française de Malacologie
ASPECTS RÉCENTS DE LA BIOLOGIE DES MOLLUSQUES
Ifremer, Actes de Colloques, no. 13, 1992, p. 7-18

1

BILAN ENERGETIQUE DE LA POPULATION DE COQUE (*CERASTODERMA EDULE* L.) EN BAIE DE SAINT-BRIEUC, MANCHE OUEST

BLANCHARD M.

IFREMER, Centre de Brest, Département Environnement Littoral, BP 70, 29280 PLOUZANE (France)

RESUME : La population de *Cerastoderma edule* située sur l'estran de la baie de Saint-Brieuc, a été suivie pendant un an, de mars 1988 à juin 1989. Les paramètres physiologiques (ingestion, égestion, respiration, excrétion) sont analysés mensuellement *in vitro*. Les résultats permettent d'observer qu'ils sont largement influencés par la maturation sexuelle. D'après les estimations de biomasse et de production réalisées sur ce gisement de 15 kilomètres carrés, le bilan énergétique de la population est établi est discuté.

Mots clés : bilan énergétique, *Cerastoderma edule*, baie de Saint-Brieuc, Manche Ouest

ENERGY BUDGET FOR THE COMMON COCKLE POPULATION (*CERASTODERMA EDULE* L.) IN THE BAY OF SAINT-BRIEUC, WESTERN CHANNEL, FRANCE

ABSTRACT : *During one year, from March 1988 to June 1989, the intertidal population of* Cerastoderma edule *in the Bay of Saint-Brieuc, is investigated. Physiological measurements (ingestion, egestion, respiration and excretion) are monthly carried out in laboratory. We observe that reproductive metabolism influences the results. The energy budget of this cockle population, based on a biomass and production estimate for a 15 x 10^6 sp.m. area, is calculated and discussed.*

Keywords : energy budget, *Cerastoderma edule*, Bay of Saint-Brieuc, Western Channel

1. INTRODUCTION

En écologie marine, les travaux réalisés sur des populations, ou des peuplements d'invertébrés, comportent désormais deux volets : le premier décrit la répartition, les densités et les biomasses, le deuxième est une analyse fonctionnelle, visant à quantifier l'intensité des échanges, à l'intérieur ou à l'extérieur de cette population. Cette mesure des transferts au sein de l'écosystème est généralement réalisée par un bilan énergétique, selon la méthode décrite par CRISP (1971), montrant qu'à l'état stable, la consommation (C) équilibre les pertes d'énergie dues à l'égestion particulaire (F), à l'excrétion liquide (U), à la respiration (R), ainsi qu'aux diverses productions (P), soit en termes énergétiques : $C = P + R + U + F$.

Cette méthode d'étude descriptive et fonctionnelle est utilisée pour des populations de mollusques marins gastéropodes, mais également pour des bivalves (HUGUES, 1970 ; EVANS,1977 ; HIBBERT, 1977...). Nous l'avons appliquée à la population de *Cerastoderma edule* de la baie de Saint-Brieuc. Située dans un peuplement de sables fins à *Tellina tenuis*, cette population , décrite par GROS et HAMON (1988), occupe une surface de 15km^2 soit un quart des estrans de la baie ; à savoir la frange supérieure des plages littorales à l'ouest de la baie, et surtout le niveau moyen des deux anses d'Yffiniac et de Morieux (fig. 1). Dans ce peuplement, trois mollusques bivalves caractérisent la biocénose : *Tellina tenuis, Cardium edule* et *Donax vittatus*. Les deux premiers représentent à eux seuls 85 % de la biomasse du peuplement, estimée en moyenne à 16 g.m^{-2} de matière organique: la coque avec 70 % de la biomasse et la telline avec 14 %. La surface du gisement est stable depuis de longues années, et fait l'objet d'une pêche à pied d'environ 400 tonnes.an^{-1}.

En septembre 1987 et en avril 1988, deux campagnes d'échantillonnages ont été réalisées à l'intérieur du peuplement précédemment délimité, afin d'affiner l'estimation de biomasse et de calculer la production de *Cerastoderma edule*. Les résultats (GROS et HAMON, 1989) font état d'une biomasse moyenne de coque, de 12 g.m^{-2} de matière organique, en septembre 1987, et de 9 g.m^{-2} en avril 1988 correspondant respectivement à une biomasse totale d'environ 4 700 et 3 700 tonnes de poids frais total pour l'ensemble du gisement.

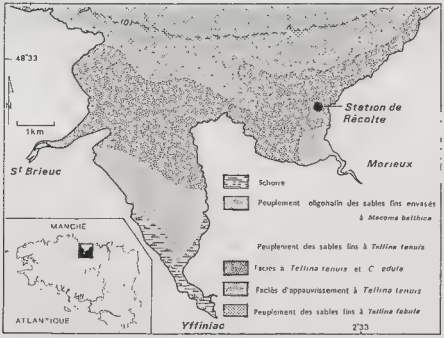


Figure 1 : Localisation du gisement de *Cerastoderma edule* en baie de Saint-Brieuc (d'après GROS et HAMON, 1988).

2. MATERIEL ET METHODES

A la suite de cette étude de dynamique de populations, une étude fonctionnelle a été entreprise en vue d'acquérir les paramètres physiologiques nécessaires à l'établissement d'un bilan énergétique. Les techniques utilisées sont décrites dans BLANCHARD (1989). Les animaux sont récoltés mensuellement de mars 1988 à juin 1989, sur une station de l'estran (cf. fig. 1) où la densité est de l'ordre de 250 ind.m^{-2} ; les mesures physiologiques sont réalisées *in vitro* en salle thermostatée, à la température du milieu, laquelle varie de 8 °C en février, à 18,5 °C en août (fig. 2).

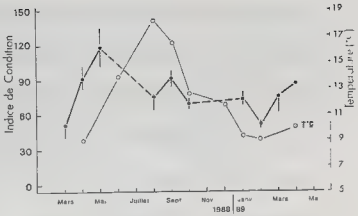


Figure 2 : Evolution mensuelle de l'indice de condition chez *Cerastoderma edule*, et de la température *in situ*. Les barres verticales correspondent à l'erreur standard, les pointillés à l'absence de mesure.

La consommation est mesurée en distribuant l'algue *Phaeodactylum tricornutum* en milieu fermé, à raison de 100 x 10^6 cellules l^{-1}, à un lot de 5 individus de taille homogène (20—30mm). Cette concentration correspond, chez la coque, à une filtration optimale (FOSTER-SMITH, 1975). La durée d'expérimentation est de 5 heures, c'est-à-dire égale au temps moyen d'immersion des animaux sur l'estran. Les cellules algales sont comptées sur un aliquote avant et après expérimentation, par un compteur de particules COULTER-COUNTER TAII équipé d'une sonde de 100µm d'ouverture. La consommation en terme énergétique est calculée par le coefficient de BAYNE (1976) : 0,2725 calories ≡ 10^6 cellules de *Phaeodactylum*. Le taux de filtration est obtenu par l'équation $F = (\log C_o - \log C_t) \cdot V/(t-t_o)$, où C_o et C_t sont les concentrations aux instants t_o et t, respectivement, et V le volume d'eau de l'enceinte. Les résultats sont rapportés au poids sec de chair sans cendres (PSSC).

L'égestion est mesurée en prélevant par pipettage l'ensemble des biodépôts, assimilés à des fèces. Ceux-ci sont déposés sur des filtres Whatman GF/F prépesés, et l'ensemble est rincé au formiate d'ammonium, placé 24 heures en étuve à 60°C, puis au four à 500 °C pendant deux heures pour connaître le contenu organique par différence de pesée. L'équivalence énergétique est de 5,67 kilocalories (g de biodépôts)$^{-1}$.

L'excrétion ammoniacale est mesurée sur un échantillon, par méthode colorimétrique de SOLORZANO, et transformée en terme énergétique par le coefficient de BAYNE (1976) : 5,94 10^{-3} calories (µg de N-NH_4)$^{-1}$.

La respiration est mesurée par la consommation d'oxygène en milieu confiné dans une enceinte d'un litre, dans laquelle plonge la sonde munie d'un agitateur (modèle ORBISPHERE 2112), reliée à un enregistreur multivoies. Dans chaque enceinte, un petit volume de sédiment permet aux animaux de

s'enfouir. Des enceintes témoins sont analysées en parallèle, et leurs réponses (avec ou sans sédiment) sont prises en compte. Nous n'avons pas constaté de réelle différence dans les réponses, selon la présence ou non de sédiment, tout comme WIDDOWS et SHICK (1985). La transformation énergétique est celle de BAYNE (1976) : 4,75 calories (ml d'oxygène)$^{-1}$.

Lors de chaque prélèvement, un sous-échantillon d'animaux est séché pendant 24heures à 60 °C, chair et valves séparément, afin d'établir un rapport poids sec de chair/poids de coquille, fournissant une information indirecte et rapide sur l'état de développement des gonades, sous la forme : indice de condition = poids sec de chair x 10^3/poids sec des valves.

3. RESULTATS

CYCLE SEXUEL

La mesure de l'indice de condition permet d'observer (fig. 2) une nette élévation du rapport, de mars à mai 1988, d'août à septembre 1988 suivie d'une chute en octobre, ainsi qu'une augmentation en février-mars 1989. Ces variations suggèrent une ponte en début d'été (mai-juin) pour les deux années, suivie d'une ponte automnale en octobre. Cette observation est corroborée par les travaux de FERNANDEZ-CASTRO *et al.* (1989) sur un autre site breton, et par ceux de GUILLOU *et al.* (1990) réalisés sur le même site, mais en 1987. Ces derniers auteurs observent également un maximum de maturation des gonades en mai, suivi d'une ponte importante en juin, une deuxième maturation plus faible, de la mi-août à la fin septembre, suivie d'une ponte plus faible que la précédente. Ces auteurs soulignent en outre que toute la population ne répond pas de façon homogène, et que l'on trouve des individus matures, au stade maximum, de février à octobre, avec même quelques cas de maturation en hiver. Selon les variations climatologiques annuelles, on peut penser que les deux périodes de maturation maximum, mai et septembre, se retrouvent d'une année sur l'autre (GUILLOU, comm. pers.).

CONSOMMATION

La coque consomme en moyenne 45,3 10^6 cellules de *Phaeodactylum* soient 12,34 calories h^{-1} (g de chair PSSC)$^{-1}$. Nous n'observons pas de relation consommation/poids de chair, du fait d'un choix initial d'une taille standard, homogène tout au long de l'étude. MOHLENBERG et RIISGARD (1979) proposent un taux de filtration $f(l.h^{-1}) = 11,60\ W^{0,70}$ ($r = 0,95$ et W en g sec de chair), montrant que cette relation consommation-poids existe. On remarque peu de variation du niveau de consommation en fonction de la température, dans la gamme 9-18 °C (fig. 3a). Si la consommation de nourriture augmente avec la température, chez de nombreuses espèces subtidales, ce paramètre n'a, par contre, que peu d'influence sur des animaux intertidaux comme la coque, soumise à de grands écarts (0 à 40 °C selon NEWELL, 1970). On note qu'en mars 1989, à 10 °C, ainsi qu'en octobre 1988, à 15 °C, les valeurs de consommation doublent, et l'on peut alors penser comme DESLOUS-PAOLI *et al.* (1987) que cette augmentation est due à la maturation sexuelle. Ces auteurs observent en effet que la coque, dans le bassin de Marennes-Oléron, filtre en moyenne 3,5 litres $h^{-1}g^{-1}$ de chair sèche, de juillet à février, c'est-à-

dire en dehors des périodes de gamétogénèse et de ponte, observées sur ce site, tandis qu'elle filtre 8,70 litres $h^{-1}g^{-1}$ de chair sèche de mars à juin, période de maturité maxima et de ponte. Ces mesures de consommation sont effectuées avec une nourriture naturelle présentant un large spectre de taille de particules.

Nos propres résultats montrent que le taux de filtration moyen est, de 1,61 litre $h^{-1}g^{-1}$ en décembre 1988, 1,16 en janvier et 2,75 en mars 1989.

EGESTION PARTICULAIRE

La coque rejette 1,31 mg de matière organique $h^{-1}g^{-1}$ PSSC, soit en moyenne annuelle 7,43 calories $h^{-1}g^{-1}$. On observe peu de relations avec le poids de chair, pour des raisons identiques à celles évoquées ci-dessus. Cette relation existe cependant. Ainsi HAWKINS *et al.* (1990) proposent-ils $F = 3{,}55\ W^{0.60}$ (W en mg et F en $\mu g\ h^{-1}$). Si la fabrication de feces est corrélée avec la température, sur l'ensemble du cycle annuel, on remarque là encore, mais de façon moins nette, des valeurs élevées à 10 et 15 °C (fig. 3b), correspondant aux dates de consommation maximum, laissant supposer une relation avec la gamétogénèse.

L'assimilation calculée par la méthode de CONOVER, correspond au taux moyen de 76,6 % de la consommation, ce qui est proche des valeurs obtenues chez d'autres auteurs : 64 % pour WIDDOWS et SHICK (1985), 68 % pour BAYNE et NEWELL (1983), 50 à 88 % pour FOSTER—SMITH (1975), 75 % pour BROCK et KOFOED (1987).

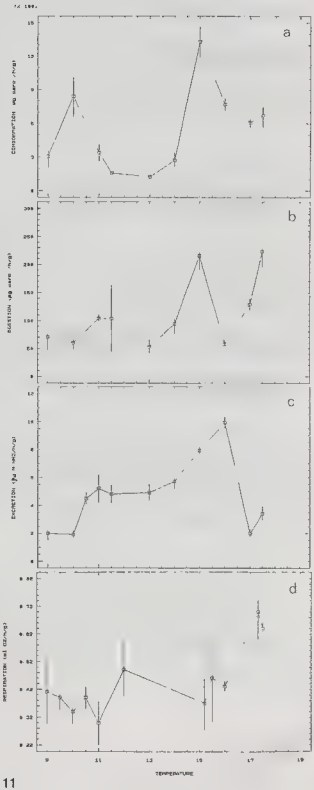


Figure 3 : Evolution des paramètres physiologiques chez *Cerastoderma edule*, en fonction de la température :
a) Consommation,
b) Egestion,
c) Excrétion azotée,
d) Respiration.
Les traits verticaux correspondent à l'erreur standard.

EXCRETION AMMONIACALE

Cette excrétion correspond à une moyenne annuelle de 66,5 μg d'azote ammoniacal $h^{-1}g^{-1}$ PSSC, soient 0,39 calories $h^{-1}g^{-1}$ PSSC. La figure 3c montre que l'excrétion augmente avec la température, de 9 à 16 °C, pour chuter nettement à 17 °C. Si l'augmentation régulière de l'excrétion est corrélée à celle de température (BAYNE, 1976 ; BAYNE et SCULLARD, 1977), les variations observées pourraient s'expliquer par la gamétogénèse. Ainsi, à 10,5 °C, une première augmentation brutale correspond aux valeurs d'avril 1988, tandis qu'à partir de 14 °C, la deuxième augmentation plus régulière correspond aux valeurs d'octobre. BAYNE et SCULLARD (1977) ont montré que l'utilisation des protéines par catabolisme provoque une élévation de l'excrétion ammoniacale et se produit à chaque maturation importante. La faible valeur observée à 17°C, correspond aux mois d'août–septembre 1988, qui est une période de restauration et de rematuration pendant laquelle est utilisé le glycogène. Il apparaît que l'excrétion azotée est donc également sous l'influence de la gamétogénèse, au travers de ces résultats.

RESPIRATION

Les résultats de consommation d'oxygène correspondent à une moyenne annuelle de 0,44 ml $h^{-1}g^{-1}$ soit 2,09 calories $h^{-1}g^{-1}$ PSSC, c'est–à–dire proche des valeurs obtenues par VAHL (1972), BROCK et KOFOED (1987) et WIDDOWS et SHICK (1985) qui obtiennent une consommation de 1,75 $cal.h^{-1}g^{-1}$ PSSC. Nos propres résultats correspondent à des taux élevés, puisqu'ils sont obtenus en mode immergé et que la consommation d'oxygène diminue de 25 à 50 % durant l'exondation (WIDDOWS et SHICK, 1985).

On observe une bonne corrélation poids de chair/consommation d'oxygène malgré la gamme restreinte de poids : $R = - 1,01\ W^{0.93}$ (W en g PSSC, r = 0,63). VAHL (1972) propose une relation obtenue à 10 °C : $R = 0,37\ W^{0.77}$ (R en ml h^{-1} et W en g tissus sec), ce qui, pour un poids sec sans cendre de 0,33 g (animal standard), correspond à R = 0,16 ml d'O_2.

Dans la gamme 9–18 °C, la consommation d'oxygène varie de façon très légère (fig. 3d) ; le maximum de consommation étant obtenu pour des températures de 25 °C (NEWELL, 1970 ; BROCK et KOFOED, 1987) et les valeurs minima (léthales) vers 40 °C. Au moment des plus fortes températures, en août, la respiration est maximum et correspond au minimum d'excrétion ammoniacale, ce qui confirme les remarques de BAYNE et SCULLARD (1977) associant une forte consommation d'oxygène à une faible excrétion d'azote lors des périodes de maturation.

On remarque donc l'influence de la reproduction sur la consommation d'oxygène, comme sur les autres paramètres physiologiques étudiés chez *Cerastoderma edule*. Ainsi on peut attribuer à la reproduction l'essentiel des variations métaboliques observées, plutôt qu'à des facteurs externes tels que la température, qui n'apparaît pas comme un facteur prioritaire chez cette espèce intertidale, ainsi que le soulignent DESLOUS–PAOLI *et al.* (1987).

BILAN ENERGETIQUE

Les résultats des mesures physiologiques ci-dessus, exprimés en termes énergétiques, nous permettent d'établir un bilan annuel. La production (P) est calculée par différence, et est équivalente à 2,43 calories $h^{-1}g^{-1}$, correspondant à 19,7 % de la consommation (fig. 4 ci-dessous) ; ces résultats sont voisins de ceux d'HUGHES (1970) ou d'HIBBERT (1977) pour d'autres espèces, avec 18,7 et 10,3 % respectivement.

Exprimés en kilocalories an^{-1} $individu^{-1}$, nos résultats sont comparables à ceux obtenus par d'autres auteurs (cf. tableau), sur une base de 10 heures j^{-1} pour C, F et U. On considère ici comme WIDDOWS et SHICK (1985) que durant l'exondation, la respiration est diminuée de moitié. Les résultats de ces auteurs sont obtenus à la température de 15 degrés, d'où les valeurs moyennes supérieures aux nôtres, lesquelles sont plus proches de celles d'EVANS (1977), obtenues de façon identique sur la côte suédoise.

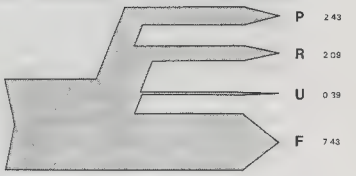


Figure 4 : Bilan énergétique de *Cerastoderma edule*, en calories j^{-1} g^{-1} PSSC.

As = C – F	R	P	Références
5,99	4,66	1,11	WIDDOWS et SHICK (1985)
3,9	3,00	0,9	EVANS (1977)
3,95	2,86	0,78	ce travail

A l'échelle de la population établie sur 15 kilomètres carrés, le bilan repose sur les estimations de biomasse réalisées par GROS et HAMON (1989) faisant état de 12 g ± 1,6 de matière organique par mètre carré, en septembre 1987. Avec les mêmes bases que ci-dessus, le bilan de la population de coques est le suivant :

consommation : 1,48 Kcal j^{-1} m^{-2} = 8 103 10^6 ± 1 039 10^6 Kcal/an ;

égestion : 0,89 Kcal j^{-1} m^{-2} = 4 873 10^6 ± 657 10^6 Kcal/an ;

excrétion : 0,047 Kcal j^{-1} m^{-2} = 257 10^6 ± 32 10^6 Kcal/an ;

respiration : 0,43 Kcal j^{-1} m^{-2} = 2 354 10^6 ± 306 10^6 Kcal/an ;

production : 0,113 Kcal j^{-1} m^{-2} = 629 10^6 ± 82 10^6 Kcal/an.

PRODUCTION

Dans leur estimation de la production du gisement de coques en baie de SAINT—BRIEUC, entre septembre 1987 et avril 1988, GROS et HAMON (1989) proposent une production totale de 5 222 tonnes de poids frais sur 210 jours.

Les estimations de biomasse ayant été utilisées pour cette simulation font état d'un coefficient de variation de 15 %. On peut supposer que l'estimation de la production est elle même entachée d'une variation non calculée, mais qui peut être identique. En estimant que le poids de chair sans cendres représente 2,10 % du poids frais total (coquille + chair) avec l'équivalence de 4,92 kilocalories g-1 PSSC pour cette espèce, l'estimation de production ci-dessus correspond à **938 x 10^6 kilocalories an^{-1}** pour l'ensemble du gisement.

GROS et HAMON (1989) calculent une perte de 62 % de cette production, répartie ainsi : 47 % par mortalité naturelle, utilisés par les détritivores et le compartiment bactérien, 11,5 % utilisés par les oiseaux, notamment l'huitrier-pie, et 3,5 % prélevés par la pêche à pied. Les 38 % de production restante correspondent à la fabrication tissulaire lors de la croissance, soient environ 1970 tonnes en 210 jours.

L'estimation de production réalisée par le bilan énergétique est égale à **629 x 10^6** ± 82 x 10^6 kilocalories an^{-1} et apparaît donc inférieure d'environ 33 % à celle obtenue ci-dessus. Pour une comparaison des deux mêmes méthodes, HUGUES (1970) relève une différence de 24 % entre les deux résultats. Deux explications peuvent être avancées pour expliquer cette différence ; la première provient de l'utilisation dans le bilan d'une gamme de taille limitée (20 à 30 mm). Or le P/B est d'autant plus important que les individus sont plus jeunes. Ainsi ce rapport est de 0,4 pour les coques de 2 ans (20 mm), mais 10 fois plus faible chez les individus de 10 ans (EVANS, 1977 ; HIBBERT, 1977). Calculée sur l'ensemble des classes de taille la production de la population peut être ainsi plus élevée quand les juvéniles sont nombreux.

La deuxième explication de différence provient de la concentration de nourriture distribuée *in vitro* (≈ 7 mg l^{-1} M.O.) car il n'est pas impossible que des concentrations supérieures soient trouvées *in situ*, d'autant que le milieu présente une eutrophisation chronique, d'où une consommation peut-être supérieure, entraînant par différence une production plus élevée dans le bilan. Il faut ajouter à cela que les mesures d'écophysiologies sont ponctuelles et ne peuvent refléter l'ensemble des conditions qu'intègre la population.

NOURRITURE DISPONIBLE

Une estimation récente des flux de carbone dans le domaine subtidal de la baie (GROS *et al.*, 1990) fait état d'une quantité de nourriture disponible pour les suspensivores benthiques d'environ 11 g de carbone organique m^{-2} an^{-1}, soit environ 30 mg j^{-1} m^{-2}. Si l'on suppose que, sur l'estran, cette valeur est au moins identique, nous pouvons tenter de rapprocher cette quantité théorique de nourriture disponible et les valeurs de consommation calculées chez la coque.

La moyenne horaire de consommation est de 622,69 μg de carbone h^{-1} g^{-1}, soit sur une base de 10 heure j^{-1}, une moyenne (C) de 6,22 mg j^{-1} g^{-1}. La biomasse moyenne (B) sur l'estran est d'environ 10,64 ± 1,55 g m^{-2}, d'après les résultats de GROS et HAMON (1989), soit une consommation de 66,18 mg j^{-1} m^{-2}. La variance de l'estimation est calculée en tenant compte du fait qu'il s'agit là du produit de deux variables indépendantes : $V(BC) = C^2V(B) + B^2V(C) + V(C)V(B)$. Avec les valeurs extrêmes de consommation mensuelle : 158 μg de carbone h^{-1} g^{-1} en décembre et 1 322 μg de carbone en octobre, on considère que sur l'estran, cette consommation se situe entre 16,81 ± 3,78 mg j^{-1} m^{-2} et 141,83 ± 53,85 mg j^{-1} m^{-2} en carbone organique, ce qui reste dans les mêmes ordres de grandeur que celle de la nourriture disponible calculée ci-dessus, et montre également le rôle prépondérant joué par le gisement de coques comme consommateur de cette nourriture.

L'analyse du peuplement intertidal en baie de Saint-Brieuc (GROS et HAMON, 1988) montre que *Cerastoderma edule* représente 70 % et *Tellina tenuis* 14 % de la biomasse du gisement. Une faible population de *Donax vittatus* d'environ 1 % complète cette biomasse de bivalves. Un bilan énergétique récemment réalisé sur *Tellina tenuis* (BLANCHARD, 1991) fait état d'une production de 43,5 kilocalories m^{-2} an^{-1}, soit sensiblement équivalente à celle de la coque (41 Kcal). La production totale de ces deux espèces, 84,5 Kcal représentant la quasi totalité de la production de mollusques bivalves au sein de ce peuplement. A raison de 5 kilocalories g^{-1} PSSC, cette production est équivalente à 16,9 g m^{-2} an^{-1}. Pour une biomasse de 16 g m^{-2} le rapport P/B de ce peuplement est ainsi de 1,05, soit très voisin de celui calculé par HIBBERT (1977) pour une communauté à coques : P/B = 1,15.

4. CONCLUSION

Ce bilan énergétique, réalisé sur un des principaux gisements français de coques, montre des résultats sensiblement identiques à ceux relevés dans la littérature, prouvant ainsi, si besoin, la validité de cette méthode d'investigation. Il souligne de plus le rôle prépondérant du cycle reproducteur sur l'ensemble de la physiologie de cette espèce, rôle que peu de travaux mettent ainsi en évidence. Une étude complémentaire nécessiterait sans doute des analyses plus serrées dans le temps pour mieux cerner les périodes sensibles.

La comparaison des deux méthodes du calcul de production, bilan énergétique et accroissement pondéral individuel lié à l'analyse des cohortes, permet de constater que les estimations sont proches, avec les réserves mentionnées.

Cette étude physiologique complète ainsi l'ensemble des travaux menés sur ce gisement, et permet de mieux comprendre le rôle prépondérant que joue la coque dans l'écosystème de la baie de Saint-Brieuc, puisqu'il couvre la majeure partie du fond de baie. Il est soumis aux apports des principaux cours d'eau, et cette localisation le rend particulièrement sensible à tous changements d'ordre qualitatif de ces apports. C'est l'objet du programme EUPHORBE, dans lequel s'inscrit le présent travail, que d'approfondir la connaissance sur l'ensemble du compartiment benthique de cette baie, d'en estimer l'ensemble des flux, et d'établir un modèle prédictif des échanges trophiques, permettant un meilleur contrôle du milieu.

BAYNE, B.L., 1976. Marine mussels, their ecology and physiology. International Biological Programm. Handbook n° 10. Cambridge University Press, 506 p.

BAYNE, B.L. et C. SCULLARD, 1977. Rates of nitrogen excretion by species of *Mytilus* (bivalvia mollusca). J. Mar. Biol. Ass. UK, 57, p 355–369.

BLANCHARD, M., 1989. Analyse fonctionnelle et méthodologique pour l'étude bioénergétique des mollusques. Rapport IFREMER DERO.EL–89.18, 100 p.

BLANCHARD, M., 1991. Etude bioénergétique de six mollusques bivalves en baie de Saint–Brieuc. Rapport IFREMER DRO.EL–91.04, 79 p. + annexes.

BROCK, V. et L.H. KOFOED, 1987. Species specific irrigatory efficiency in *Cardium* (*Cerastoderma*) *edule* L.) and *C. Lamarcki* (Reeve) responding to different environmental temperatures. Biological Oceanography, vol. 4, n° 3, p 211–226.

CRISP, D.J., 1971. Energy flow measurements. *In* Methods for the study of marine benthos. Holme and Mc Intyre ed. IBP Handbook n° 16. Blackwell publications, p 197–279.

DESLOUS–PAOLI, J.M., M. HERAL, P. GOULLETQUER, W. BOROMTHANARAT, D. RAZET, J. GARNIER, J. PROU et L. BARILLET, 1987. Evolution saisonnière de la filtration de bivalves intertidaux dans des conditions naturelles. Oceanis, vol. 13, fasc. 4–5, p 575–579.

EVANS, S., 1977. Growth, production and biomass release of a non–stable population of *Cardium edule* (L.) Bivalvia. Zoon, vol. 5, p 133–141.

FERNANDEZ–CASTRO, N., J. GUILLOU, M. LE PENNEC et J.J. CARDENAS–LOPEZ, 1989. Le cycle sexuel de *Cerastoderma edule*, Bivalve cardidae, à BROUENNOU (Finistère). Haliotis, 19, p 329–334.

FOSTER–SMITH, R.L., 1975. The effect of concentration of suspension on the filtration rates and pseudofaecal production for *Mytilus edulis* (L.), *Cerastoderma edule* (L.) and *Venerupis pullastra* (M.) J. Exp. Mar. Biol. Ecol., vol. 7, p 1–22.

FOSTER–SMITH, R.L., 1976. Some mechanisms for the control of pumping activity in bivalves. Marine Behaviour Physiology, vol. 4, p 41–60.

GROS, Ph. et D. HAMON, 1988. Typologie biosédimentaire de la baie de Saint–Brieuc (Manche ouest) et estimation de la biomasse des catégories trophiques macrozoobenthiques. Rapport IFREMER DERO.EL–88.27, 153 p.

GROS, Ph. et D. HAMON, 1989. Estimation de la biomasse de bivalves intertidaux (moules, coques) exploités en baie de Saint–Brieuc (Manche ouest). Rapport IFREMER DERO.EL—89.25, 137 p.

GROS, Ph., M. BLANCHARD, P. CHARDY, P. GENTIEN, D. HAMON et Y. MONBET, 1990. Quantifying energy and matter fluxes through the benthic trophic web in an eutrophicated coastal ecosystem. Rapport atelier franco–suédois sur l'environnement, Chambéry, 30/09/1990.

GUILLOU, J., G. BACHELET, M. DESPREZ, J.P. DUCROTOY, I. MADANI, H. RYBARCZYK, P.G. SAURIAU, B. SYLVAND, B. ELKAIM et M. GLEMAREC, 1990. Les modalités de la reproduction de la coque (*Cerastoderma edule*) sur le littoral français de la Manche et de l'Atlantique. Aquat. Living Resour., vol. 3, p 29–41.

HAWKINGS, A.J.S., E. NAVARRO et J.P. IGLESIAS, 1990. Comparative allometries of gut passage time, gut content and metabolic faecal loss in *Mytilus edulis* and *Cerastoderma edule*. Marine Biology, vol. 105, p 197–204.

HIBBERT, C.J., 1977. Energy relations of the bivalve *Mercenaria mercenaria* on an intertidal mudflat. Marine Biology, vol. 44, p 77–84.

HUGUES, R.N., 1970. An energy budget for a tidal flat population of the bivalve *Scrobicularia plana* (Da Costa). J. Anim. Ecology, T. 39, p 357–381.

MOHLENBERG, F. et H.U. RIISGARD, 1978. Efficiency of particle retention in 13 species of suspension feeding bivalves. Ophelia 17 (2), p 239–246.

MOHLENBERG, F. et H.U. RIISGARD, 1979. Filtration rates using a new indirect technique in thirteen species of suspension feeding bivalves. Marine Biology, vol. 54, p 143–147.

NEWELL, R.C., 1970. Biology of intertidal animals. Paul Eleck ed., Londres, 555 p.

VAHL, O., 1972. Porosity of the gill ; oxygen consumption and pumping rate, in *Cardium edule* (L.) bivalvia. Ophelia, 10, p 109–118.

WIDDOWS, J. et J.M. SHICK, 1985. Physiological responses of *Mytilus edulis* and *Cardium edule* to aerial exposure. Marine Biology, vol. 85, p 217–232.

Société Française de Malacologie
ASPECTS RÉCENTS DE LA BIOLOGIE DES MOLLUSQUES
Ifremer, Actes de Colloques, no. 13, 1992, p. 19-28

2

LES RESERVES ENERGETIQUES DE *MYTILUS EDULIS* : COMPARAISON DES STRATEGIES DEVELOPPEES DANS LA BAIE DE GDANSK (POLOGNE) ET LE BASSIN DE MARENNES-OLERON (FRANCE)

DESLOUS-PAOLI J.M.[1], WOLOWICZ M.[2] et BOROMTHANARAT S.[3]

[1] *IFREMER, Lab. Environnement Méditerranéen 34200 SETE (FRANCE)*

[2] *University of Gdansk, Inst.Oceanogr., Al. J.Pilsudskiego 46, 81-378 GDYNIA (POLOGNE)*

[3] *Prince of Songkla Univ., Nat.Res., Dept.Aqu.Sci., Hat-Yai, 90010 SONGKLA (THAILAND)*

RESUME : Les processus physiologiques de deux populations de *Mytilus edulis* de l'Atlantique (Marennes-Oléron, France) et de la mer Baltique (baie de Gdansk, Pologne) ont été comparés. Ces processus sont discutés en fonction de l'état physiologique des populations (gamétogenèse, ponte) et des paramètres abiotiques (température, salinité) et biotiques (seston, chlorophylle) de leur environnement. Deux périodes induisent l'utilisation des réserves énergétiques de la chair. La première est liée à la période de reproduction (de février à mai dans le bassin de Marennes-Oléron, et, en juin-juillet pour la baie de Gdansk), et la deuxième aux mauvaises conditions trophiques hivernales. La réponse physiologique de ces deux populations, pendant ces deux périodes, montre que les stratégies développées sont très différentes. Les moules de Marennes-Oléron présentent un métabolisme essentiellement glucidique, à l'inverse, les moules de la baie de Gdansk développent un métabolisme lipidique.

Mots clés : *Mytilus edulis*, Gdansk (Baltique), Marennes-Oléron (Atlantique), stratégies énergétiques

MYTILUS EDULIS L. ENERGY RESERVES : COMPARED STRATEGIES IN THE BAY OF GDANSK (POLAND) AND IN THE BAY OF MARENNES-OLERON (FRANCE)

ABSTRACT : *Physiological processes of two populations of* Mytilus edulis *from the Atlantic coast (Marennes-Oléron, France) and from the Baltic coast (Gdansk, Poland) are compared. These parametres are discussed according to the physiological state of the populations (gametogenesis, spawning) and to the environmental abiotic (temperature, salinity) and biotic measurements (seston, chlorophyl). Two periods induce the use of energetic reserves from the flesh. The first one is due to the reproduction period (between February and May in the Bay of Marennes-Oléron and during June-July in the Bay of Gdansk), the second one to the bad winter trophic conditions. The physiological answers of these two populations during the two periods, shows that different strategies take place. The mussels from Marennes-Oléron have a metabolims which is essentially based on carbohydrates, on the contrary, the mussels from the Bay of Gdansk develop a lipidic metabolism.*

Keywords : ***Mytilus edulis*, Gdansk (Baltic), Marennes-Oléron (Atlantic), energetic strategies**

INTRODUCTION

Sa large aire de répartition géographique, fait de la moule, *Mytilus edulis* (L.), une espèce intéressante, tant d'un point de vue économique que du point de vue des stratégies d'adaptation qu'elle a développées dans des milieux très différents. En effet, on retrouve ces populations sauvages ou en culture, tout autour de l'Europe, depuis la mer Baltique jusqu'aux côtes d'Espagne. Ces stratégies d'adaptation visent principalement à assurer la survie de l'espèce dans les secteurs déjà colonisés, ainsi qu'à élargir ces derniers. La grande variabilité spatiale et temporelle des différents facteurs climatiques et environnementaux que cette espèce tolère, la conduit à des adaptations aussi bien morphologiques, biologiques, physiologiques et génétiques. Ces adaptations peuvent se manifester par une taille des palpes labiaux adaptée à la fonction de tri dans des milieux très ou peu chargés en matériel en suspension (KIORBOE et al., 1980), par des vitesses de croissance différentes selon la température, la disponibilité en nourriture ou la pollution, par des cycles de reproduction à des saisons différentes gérés par la température (LUBET et al., 1981 ; LUBET, 1983) et l'apparition de spécificités génétiques (HUMMEL et al., 1990).

Ainsi l'étude des remaniements des constituants biochimiques, en fonction des besoins physiologiques et des variables environnementales, peut mettre en évidence les mécanismes d'adaptation au milieu. Pour celà, nous comparerons les stratégies d'utilisation et de constitution des réserves énergétiques de moules issues de deux populations, l'une de la baie de Gdansk (Pologne) dans la zone froide boréale, et d'autre du bassin de Marennes-Oléron (France) dans la zone tempérée-lusitanienne.

MATERIELS ET METHODES

Origine des populations étudiées (fig. 1)

Dans la baie de Gdansk, les populations de *M.edulis* sauvages constituent 70 à 80 % de la biomasse de la faune benthique (ZMUDZINSKI, 1967 ; WIKTOR, WENNE, 1982). Elles forment des bancs très denses entre 3 et 15 m de profondeur (CUENA BARRON, WOLOWICZ, 1981).

Dans le bassin de Marennes-Oléron, les populations de *M.edulis* sont exploitées après fixation naturelle sur des pieux de bouchot, plantés dans la zone intertidale.

Les populations de *M.edulis*

Des moules, agées de 2 à 3 ans (45 à 60 mm de longueur pour le bassin de Marennes-Oléron, et 20 à 30 mm de longueur pour la baie de Gdansk) ont été récoltées mensuellement de septembre 1983 à août 1984 à Marennes-Oléron, et de septembre 1986 à juillet 1987 dans la baie de Gdansk.

La croissance est estimée par mesure de la longueur d'échantillon de 200 à 1100 individus pour Marennes-Oléron (BOROMTHANARAT, 1986) et de 100 à 150 pour la baie de Gdansk. La classification des stades du cycle sexuel repose sur l'échelle macroscopique proposée par CHIPPERFIELD (1953) et BAYNE et THOMPSON (1970). Des échantillons de 50 moules sont sacrifiés après un passage de 24 h en eau de mer filtrée (MORTON, 1970).

La chair est prélevée individuellement, lyophylisée et broyée après pesée. Les protéines sont estimée par la méthode de LOWRY et al. (1951) après extraction à la soude normale. Les lipides, extraits par la méthode de BLIGHT et DYER (1959), sont quantifiés par la méthode de MARSH et WEINSTEIN (1966). Les glucides, extraits au TCA 15 %, et le glycogène obtenu après précipitations à l'éthanol 99 %, sont déterminés par la méthode de DUBOIS et al. (1956). Les cendres sont quantifiées par pesée après calcination à 450° C pendant 24 h. Les résultats seront exprimés en % de chair sèche sans cendre (CSSC).

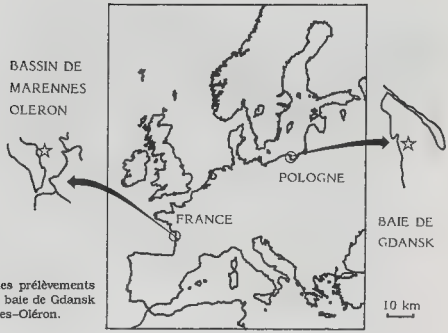


Figure 1 : Situation géographique des prélèvements de moules Mytilus edulis en baie de Gdansk et dans le bassin de marennes-Oléron.

Les conditions de milieu

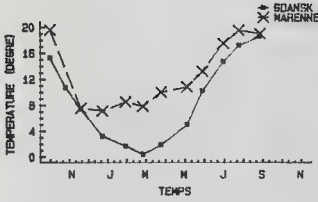
Pendant toute la durée de l'étude, la température et la salinité sont mesurées tous les 14 jours. Le seston est estimé par pesée après filtration sur filtre Whatman GFC après séchage à 60°. La teneur minérale du seston est quantifiée après calcination à 450 C pendant 1 heure. Les chlorophylles, après filtration sur Whatman GFC sont extraites par l'acétone 90 % et mesurées par la méthode spectrophotométrique de STRICKLAND et PARSONS (1972).

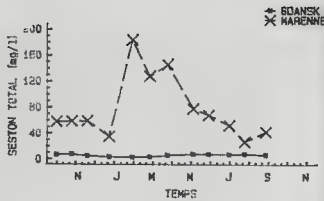
RESULTATS

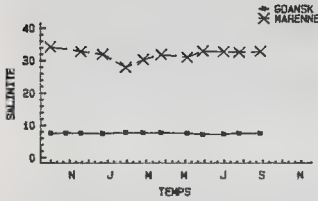
Conditions hydrobiologiques

Paramètres abiotiques (fig. 2) : les différences entre la baie de Gdansk et le bassin de Marennes-Oléron apparaissent principalement en hiver avec des températures de l'eau atteignant 0,4° C au mois de février à Gdansk, et, 7,1° C au mois de décembre à Marennes-Oléron. Par contre les salinités diffèrent notablement toute l'année, avec en moyenne 7,5 °/₀₀ à Gdansk et 31,9 °/₀₀ à Marennes-Oléron. La teneur en oxygène des eaux est comprise entre 80 et 120 % de saturation dans les deux secteurs.

Paramètres biotiques (fig. 3) : les fortes teneurs en seston, enregistrées en hiver et début de printemps à Marennes-Oléron, sont constituées pour 82 à 97 % d'éléments minéraux, et atteignent 184 mg/l, alors qu'à Gdansk la charge sestonique ne dépasse pas 8,1 mg/l mais est constituée pour 40 à 60 % de matières organiques. Exception faite des apports de matières organiques détritiques hivernales à Marennes-Oléron (HERAL et al., 1982), des enrichissements en matières organiques sont observés au printemps dans les deux secteurs. Ces enrichissements sont alors le fait des blooms phytoplanctoniques. D'une manière générale, les teneurs en chlorophylle sont plus élevées dans la baie de Gdansk (4.67 mg/l) que dans le







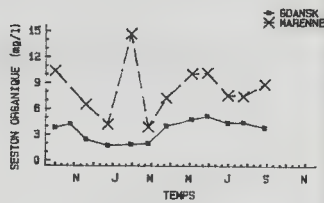


Figure 2 : Evolution des paramètres abiotiques (température et salinité) dans les secteurs de prélèvements de moules en baie de Gdansk et dans le bassin de Marennes-Oléron.

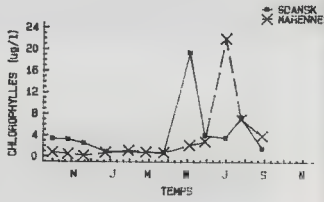


Figure 3 : Evolution des paramètres biotiques (seston total et organique, chlorophylles) dans la baie de Gdansk et le bassin de Marennes-Oléron.

bassin de Marennes-Oléron (3.88 mg/l). Les teneurs en chlorophylles montrent des variations saisonnières très importantes. Les valeurs très faibles ont été observées en hiver puis atteignent rapidement des maxima en avril dans la baie de Gdansk et en juin dans le bassin de Marennes-Oléron.

Compositions de la chair de *M.edulis*

C'est pour les trois constituants de la chair (protéines, lipides et glycogène) pouvant jouer un rôle de réserves énergétiques chez la moule, qu'apparaissent les différences

les plus importantes entre les deux populations étudiées.

Protéines (fig. 4) : malgré les différences de niveaux des teneurs en protéines, les variations saisonnières sont similaires pour les deux populations. Ces teneurs augmentent en automne pour atteindre leurs maxima en février (40 % CSSC) dans la baie de Gdansk et en avril (54 % CSSC) dans le bassin de Marennes-Oléron. Pour les populations de ce dernier, le niveau le plus bas est observé en juin (42 % CSSC) de même que dans la baie de Gdansk (30 % CSSC).

Glycogène et sucres libres non glycogènes (fig. 4) : chez les moules du bassin de Marennes-Oléron, on observe une évolution inverse des teneurs en protéines et glycogène. Les valeurs les plus fortes en glycogène sont enregistrées en été et automne (jusqu'à 44 % CSSC en juillet-août) et diminuent jusqu'à 0,5 % CSSC en fin de période de ponte en avril. Les teneurs en glycogène de *M.edulis* de la baie de Gdansk, par contre, ne présentent pas de fortes variations, restant comprises entre 4 et 6 % CSSC en automne et début d'hiver et moins de 1 % CSSC pendant le reste de l'année. Les teneurs en sucres non glycogènes oscillent entre 1 et 4 % CSSC pour les populations des deux régions étudiées.

Lipides (fig. 4) : les pourcentages de lipides de la chair des moules du bassin de Marennes-Oléron varient peu autour de 10 % CSSC, et atteignent 14 % CSSC au début de la période de reproduction en février. A l'inverse, pour les moules de la baie de Gdansk, les valeurs observées sont toujours plus élevées et passent de 13 % CSSC en janvier à près de 25 % CSSC avant la ponte au mois de juin.

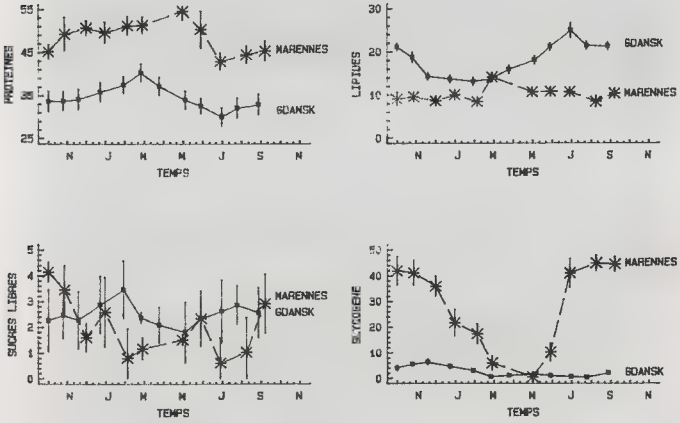


Figure 4 : Evolution de la composition en protéines, lipides, glycogène et sucres libres des moules Mytilus edulis de la baie de Gdansk et de bassin de Marennes-Oléron. Valeurs exprimées en pourcentage de chair seche sans cendre, barres verticales=écart-type.

DISCUSSION

L'évolution saisonnière des principaux constituants biochimiques de la chair des *Mytilus edulis* (DE ZWAAN, ZANDE 1972, GABBOT, BAYNE, 1973, PIETERS et al. 1979, VOOGT, 1983), et leurs remaniements en fonction de l'état physiologique (GABBOT 1975, PIETERS et al. 1980, ZANDEE et al. 1980, DE ZWAAN 1983) est bien connus. Cependant aucune de ces études n'avaient mis en évidence l'existence de deux stratégies, d'accumulation et d'utilisation des réserves énergétiques chez une même espèce soumis à des conditions biotiques et abiotiques aussi différentes que celles que l'on rencontre en mer Baltique et sur la façade Atlantique française.

Si la tendance de l'évolution des teneurs en protéines reste similaire dans les deux secteurs d'étude, le décalage constaté est vraisemblablement dû aux différences de salinités. En effet, le maintien de l'équilibre osmotique est principalement le fait des acides aminés (BISHOP et al. 1983) dont certains sont pris en compte par la méthode de dosage utilisée. L'évolution de la teneur en glycogène des moules du bassin de Marennes-Oléron et celle des lipides des moules de la baie de Gdansk est opposée à celle des protéines. Les valeurs des plus hautes atteintes de décembre à mai, correspondent à la fin de la gamétogenèse et à la période des pontes successives pour les moules de Marennes-Oléron (BOROMTHANARAT et al., 1986). En effet BAYNE et al. (1978) et PIETERS et al. (1980) signalent que les ovules contiennent 2 à 2,5 fois plus de protéines que de lipides, protéines qui sont synthétisées de novo (HOLLAND, 1978).

Pour *Mytilus edulis*, l'évolution saisonnière classiquement décrite pour le stockage et l'utilisation du glycogène (pour une synthèse voir GABBOT, 1983), correspond à ce qui est observé dans le bassin de Marennes-Oléron. Un stockage rapide de glycogène en mai-juin est suivi par une utilisation plus lente sur 6 à 8 mois comme le montre le rapport glycogène/protéines (fig. 5). Ce stockage, à partir de glucose exogène, fourni par les blooms phytoplanctonique printaniers, permet d'assurer à la fois la survie et la maturation des gonades, pendant l'hiver, lorsque la capacité d'utilisation du glucose exogène est réduite (ZABA et DAVIES, 1980). De plus, c'est durant la gamétogenèse, que le glycogène est utilisé pour synthétiser les lipides nécessaires aux réserves énergétiques des ovules.

A l'inverse, les moules de la baie de Gdansk , ne présentent pas de variations notables de la teneur en glycogène de leur chair. Cependant, les variations de la teneur en lipides sont similaire à celles observées pour le glycogène des moules du bassin de Marennes-Oléron comme le montre la fig. 5. Ainsi les lipides sont accumulés au printemps pendant les bonnes conditions trophiques provoquées par les blooms à Bacillariophyceae (PLINSKI, 1979). En effet, il existe une bonne relation entre les pourcentages de lipides dans la chair des moules de la baie de Gdansk et les quantités de seston présent dans les eaux (% LIP = 9 496 + 0.348 TEMP + 0.894 ST, n = 12, r = 0.8152). De plus, l'accumulation plus précose de cette réserve lipidique par les moules de la baie de Gdansk (fig. 5), par rapport à celles de la réserve en glycogène des moules du bassin de Marennes-Oléron est sans doute à relier à l'apparition dès le mois d'avril des blooms phytoplanctoniques alors qu'ils ne sont enregistrés qu'en juin dans le bassin de Marennes-Oléron. Ces réserves sont ainsi immédiatement utilisées pour la gamétogenèse et en partie perdues lors de la ponte au mois de juin (JURGA, WOLOWICZ sous presse). Ainsi au printemps le cycle classique glucose exogène-glycogène-lipides est remplacé ici par un cycle raccourci permettant la constitution immédiate à la fois des réserves lipidiques des ovules et des réserves lipidiques somatiques. Pendant l'automne (septembre-octobre), l'accumulation des lipides est liée aux blooms à Centricae (PLINSKI, 1979). D'octobre à décembre, la rapide diminution des lipides s'accompagne d'une légère augmentation des glycogènes qui serviront, avec les lipides restant à passer la période hivernale. Les plus faibles besoins en énergie des moules de Gdansk par rapport aux moules de Marennes-Oléron, pendant cette période hivernale, sont lié au décalage de la période de gamétogenèse qui ainsi ne se surrajoute plus aux besoins métaboliques de survie durant cette période défavorable sur le plan trophique. La faiblesse relative de l'évolution des glycogène (entre 8% en décembre et 1% en mars) est tout à fait similaire à ce qui est rencontré pour l'huître *Crassostrea gigas*

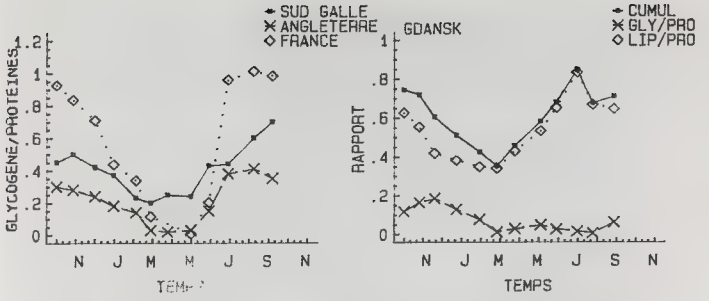


Figure 5 : – Evolution du rapport glycogène/protéines pour les moules de l'estuaire du Conway (Sud Galle)(DARE et EDWARDS, 1975), d'Essex (sud de l'Angleterre)(WILLIAMS, 1969) et du bassin de Marennes–Oléron n. B – Evolution des rapports glycogène/protéines (GLY/PRO), lipides/protéines (LIP/PRO) et glycogène +lipides/protéines (CUMUL) pour les moules de la baie de Gdansk.

(DESLOUS–PAOLI, HERAL, 1988) particulièrement cultivée dans de bonnes conditions trophiques en claire (DESLOUS–PAOLI et al., 1981) et qui présente, comme les moules de la baie de Gdansk une reproduction estivale.

L'utilisation des lipides comme réserve énergétique, remplaçant en grande partie celle constituée par le glycogène, a aussi été récemment décrite pour *Cardium glaucum* où ils représentent 80 % de l'énergie accumulée (WOLOWICZ, 1990). De même, WENNE (1985) signale que jusqu'à 32 % du poids de chair sèche sans cendre peut être constitué de lipides pour *Macoma baltica* vivant dans la baie de Gdansk.

En conclusion, si le glycogène semble rester la réserve énergétique mise en place normalement pour supporter les rigueurs trophiques hivernales sous la plupart des climats, le décalage de la ponte du aux différences climatiques et/ou les différences de qualité et de période d'apparition des blooms phytoplanctoniques entraîne le remplacement d'une stratégie glucidique par une lipidique permettant de faire face à la fois aux besoins de croissance et de gamétogenèse pendant la période printanière et suggère une utilisation directe des lipides phytoplanctoniques, dans la constitution des réserves énergétiques des ovules durant la gamétogenèse.

BAYNE, B.L., THOMSON, R.J., 1970. Some physiological consequences of keeping *Mytilus edulis* in the laboratory. Helgol. Wiss. Meersinters 20, 526–552.

BAYNE, B.L., HOLLAND, D.L., MOORE, M.N., LOWE, D.W. WIDDOWS, J. 1978. Further studies on the effects of stress in the adults on the eggs of *Mytilus edulis*. J.mar. biol. Ass. UK.58, 825–841.

BISHOP, S.M., ELLIS, L.L., BURCHAM, J.H., 1983. Amino acid metabolism in molluscs. In : The Mollusca ed. K.M. Wilbur, A.S.M. Salenddin, Academic Press, London 1, 243–327.

BLYGHT, E.G., DYER, W.F., 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification : Can. J. Biochem. Physiol. 37, 911–917.

BOROMTHANARAT, S., 1986. Les bouchots à *Mytilus edulis* L. dans l'écosystème estuarien du Bassin de Marennes–Oléron (France) ; aspects biologiques et bioénergétiques. Thèse Doctorat sp. Université Aix–Marseille II, 141.

BOROMTHANARAT, S., DESLOUS–PAOLI, J.M., HERAL, M., 1986. Reproduction et recrutement de *Mytilus edulis* L. cultivée sur les bouchots du bassin de Marennes–Oléron. Haliotis 16, 317–326.

CHIPPERFIELD, P.N.J., 1953. Observations on the breeding and settlement of *Mytilus edulis* L. in the british waters. J. mar biol. Ass. UK. 32, 449–476.

CUENA BARRON, L., WOLOWICZ M., 1981. A preliminary out line of the *Mytilus edulis* population from Gdansk Bay. Oceanografia 8, 127–140.

DARE, P.J. EDWARDS, D.B., 1975. Seasonal changes in flesh weight and biochemical composition of mussels (*Mytilus edulis*) in the Conway estuary, North Wales. J. Exp. Biol. Ecol. 18, 89–97.

DESLOUS–PAOLI, J.M., ZANETTE, Y., HERAL, M., MASSE, M., GARNIER, J., 1981. (1982). Amélioration de la forme et de la qualité de l'huître *Crassostrea gigas* Thunberg dans les claires de Marennes–Oléron. Rev. Trav. Inst. Pêches marit., 45, 181–194.

DESLOUS–PAOLI, J.M., HERAL, M., 1988. Biochemical composition and energy value of *Crassostrea gigas* (Thunberg) cultured in the bay of Marennes–Oléron. Aquat. Living Resours, 1, 239–249.

DE ZWAAN, A., ZANDEE, D.J., 1972. Body distribution and seasonal changes in the glycogens content of the common sea mussel *Mytilus edulis*. Comp. Biochem. Physiol. 43 A, 53–58.

DE ZWAAN, A., 1983. Carbohydrate catabolism in bivalves. In : The Mollusca ed. K.M. Wilbur, A.S.M. Saleuddin, Academic Press, London 1, 137–175.

DUBOIS, M., GILLES, K.A., HAMILTON, J.K., REBECS, P.A., SMITH, F., 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Anal. chem. 28, 350–356.

GABBOTT, P.A., BAYNE, B.L., 1973. Biochemical effects of temperature and nutritive stess on *Mytilus edulis* L. J. mar. biol. Ass. U.K. 53., 269–286.

GABBOTT, P.A., 1975. Storage cycles in marine bivalve molluscs : a hypothesis concerning relationship between glycogen metabolism and gemetogenesis. Proc 9 th. Europ. mor. Biol. symp. Ed. M. Barnes. Aberdeen Univ. Press, 191–211.

GABBOT, P.A., 1983. Developmental and seasonal metabolic activities in marine molluscs. In : The Mollusca ed. K.M. Wilbur, A.S.M. Salenddin, Academic Press, London, 2, 165–217.

GIESE, A.C., 1969. A new approach to the biochemical composition of the mollusc body. Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev. 7, 175–229.

HERAL, M., RAZET, D., DESLOUS-PAOLI, J.M., BERTHOME, J.P., GARNIER, J., 1982. Caractéristiques saisonnières de l'hydrobiologie du complexe estuarien de Marennes-Oléron (France). Rev. Trav. Inst. Pêches marit. 46, 97-119.

HOLLAND, D.L., 1978. Lipid reserves and energy metabolism in the larvae of benthic marine invertebrates. In : Malins. D.C.. Sargent, J.R.. Biochemical and biophysical perspectives in marine biology. Academic Press, London, 85-123.

HUMMEL, M., BOGAARDS, R.H., DE WOLF., L., WIJNHOLDS J.A., 1990. The interrelation of length, age and heterozygosity in *Mytilus edulis* in the delta area of the Netherlands. In. Phenotypic responses and individuality in aquatic ectotherms. Ed. J.C. Aldrich, Japaga, Ashford, 65-71.

JURGA, M., WOLOWICZ, M., sous press. Gametogenesis of *Mytilus edulis* L. (Bivalvia) from the Gulf of Gdansk. Oceanografia 13.

KIORBOE, T., MOHLENBERG, F., NOHR, O., 1980. Feeding, particle selection and carbon absorption in *Mytilus edulis* in different mixtures of algae and resuspended bottom material. Ophelia 19, 193-205.

LOWRY, O.H., ROSEBOROUGH, N.J., FARRAND, A.L., RANDALL, R.J., 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. J. Biol. chem. 193, 265-275.

LUBET, P., GIMAZANE, J.P., PRUNUS, G., 1981. Etudes du cycle de reproduction de *Mytilus galloprovinctalis* (Lmk) (Mollusques, lamellibranches) à la limite de son aire de reproduction. Comparaison avec les autres secteurs de cette aire. Haliotis 11, 157-170.

LUBET, P., 1983. Experimental studies on the action of temperature on the reproductive activity of the mussel (*Mytilus edulis* L., Mollusca, Lamellibranchia). J. moll. Stud. Suppt. 12 A, 100-105.

MARSH, J.B., WEINSTEIN, D., 1966. Simple charring method for determination of lipides. J. lipid. Res. 7, 574-576.

MORTON, B., 1970. The tidal rhytm and rhytm of feeding and digestion in *Cardium edule*.J. mar. biol. Ass. U.K. 50, 499-512.

PARACHE, A. 1988. Influence du réchauffement lié au fonctionnement d'une centrale électrique sur le cycle de reproduction de *Mytilus galloprovincialis* (Martigues-Ponteau, Méditerranée Nord-Occidentale). Haliotis, 18, 283-295.

PIETERS M., KLUYTMANS, J.M., ZURBURG, W., ZANDEE, D.J., 1979. The influence of seasonal changes on energy metabolism in *Mytilus edulis* L. I. growth rate and biochemical composition in relation of environmental parameters and spawning. In. E. Naylor, R.G. Hartnoll (Ed.) Cyclic phenomena in marine plants and animals. 285-292, Pergamon Press New York.

PIETERS, M., KLUYTMANS, J.H., ZANDEE, D.J., CADEE, G.C., 1980. Tissue composition and reproduction of *Mytilus edulis* in relation to food availability. Neth J. sea Res. 14, 349-361.

PLINSKI, M. 1979. Kierunkir zmian stwukturalnych w fitoplanktonie estuariow Baltyku potudniowego Zeszyty Naukowe U.G. 136.

STRICKLAND, J.D.H., PARSONS, T.R., 1972. A practical handbook of seawater analysis. Ed. Bull. Fish. Res. Board. Can. 167, 1–311.

VOOGT, P.A., 1983. Lipids : their distribution and metabolism. In : The Mollusca. ed. K.M. Wilbur, A.S.M. Salenddin, Academic Press, London, 329–370.

WENNE, R., 1985. Microgeographic differentiation of the reproductive cycle of *Macoma balthica* (L.) in the Gdansk Bay (south Baltic), and the relationship between this cycle and energy reserve changes. Pol. Arch. Hydrobiol. 32, 47–63.

WIKTOR, K. WENNE, R., 1982. Fauna denna przybezanych wod zatoki Gdanskiej : studia i mat. KBM PAN. Biologia morza 6, 137–171.

WILLIAMS, C.S., 1969. The effect of *Mytilicola intestinalis* on the biochemical composition of mussels. J. mar. biol. Ass. U.K. 49, 161–173.

WOLOWICZ, M., 1990. Geograficzne zroznicowanie populacji *Cardium glaucum* Bruguière (Bivalvia). Hipotezy do ty czace pochodzenia gatunku oraz drog migracji. Zeszyty nukiowe U.G.

ZABA, B.N., DAVIES, J.J., 1980. Glucose metabolism in an in vitro preparation of the mantle tissue from *Mytilus edulis* L. Mar. Biol. Lett. 1., 235–243.

ZANDEE, D.J., KLUYTMANS, ZURBERG, W., PIETERS, M., 1980. Seasonal variations in biochemical composition of *Mytilus edulis* (L.) with reference to energy metabolism and gametogenesis. Neth J. sea Res. 14, 1–29.

ZMUDZINSKI, L., 1967. Zoobenthos of Gdansk bay. Prace MIR 14, ser A, 47–80.

Société Française de Malacologie
ASPECTS RÉCENTS DE LA BIOLOGIE DES MOLLUSQUES
Ifremer, Actes de Colloques, no. 13, 1992, p. 29-38

3

REPRODUCTION ET RECRUTEMENT DE LA COQUE *CERASTODERMA EDULE* L. A SAINT-POL-DE-LEON (BRETAGNE-NORD)

GUILLOU J. et TARTU C.

Laboratoire d'Océanographie Biologique, Faculté des Sciences, 29287 BREST Cédex

RESUME : Le déterminisme du recrutement de *Cerastoderma edule* a été étudié sur le site de St-Pol-de-Léon pendant trois années. La démarche vise à définir l'influence de la reproduction sur les fluctuations des juvéniles. L'analyse est basée sur les informations complémentaires procurées par une échelle de maturité et un indice de condition. Sur l'ensemble de la période considérée, le caractère étalé des pontes est mis en évidence. Les principales émissions de gamètes débutent en été et se poursuivent durant tout l'automne. Les fluctuations du recrutement, qu'elles soient saisonnières ou interannuelles, apparaissent en étroite relation avec celles de l'indice de condition. Un acroissement de l'effort de reproduction est observé entre 1987 et 1989 parallèlement à une augmentation inter-annuelle de la température. Ce facteur apparaît comme le principal responsable des fluctuations du recrutement.

Mots clés : *Cerastoderma edule*, cycle de reproduction, recrutement, température, variabilité interannuelle, Bretagne-nord

REPRODUCTION AND RECRUITMENT OF *CERASTODERMA EDULE* (L.) AT SAINT-POL-DE-LEON (NORTH-BRITTANY)

***ABSTRACT** : Investigation on the recruitment of* Cerastoderma edule *was carried out at St-Pol-de-Léon over three years. This approach is intended to disclose in the fluctuations of recruitment the part of variability linked with reproduction and spawning. Stages of sexual maturity are used together with a condition index. The reproductive activity spread out over the most part of the year, ripe individuals being observed even in winter. Main spawning took place in summer and autumn. Seasonal and interannual fluctuations of recruitment are associated with the variations of the condition index. An increase of the reproductive activity could be observed between 1987 and 1989 related with temperature. It is shown that this factor is the main responsible of the variations of recruitment.*

Keys words : *Cerastoderma edule*, reproductive cycle, recruitment, temperature, interannual variability, North-Brittany

INTRODUCTION

Les populations de mollusques bivalves sont fréquemment l'objet de fortes fluctuations d'abondance d'origines diverses, biotiques comme abiotiques, très souvent liées au recrutement (Hancock et Urquhart, 1965 ; McIntyre, 1970 ; Dow, 1972). Les gisements de coques (*Cerastoderma edule* L.) n'échappent pas à ces fluctuations qui peuvent aboutir à l'effondrement des stocks ou à leur exceptionnel développement (Franklin, 1972 ; Hancock, 1973 ; Beukema, 1982 ; Desprez *et al.*, 1987). Cette étude, qui s'intègre dans le cadre du Programme national sur le déterminisme du recrutement, vise à identifier les processus responsables et à en quantifier les effets afin de les hiérarchiser et définir ainsi les principaux stades critiques.

Une démarche préalable et essentielle consiste à identifier dans ces fluctuations la part de variabilité découlant de la reproduction et des pontes. Une première approche a permis d'appréhender la variabilité géographique au niveau des principaux sites français de la Manche et de l'Atlantique (Guillou *et al.*, 1990). L'étape suivante, présentée ici, porte sur la variabilité temporelle sur trois cycles annuels au niveau du site de St-Pol-de-Léon (Finistère-nord).

MATERIEL & METHODES

Le gisement de *C. edule* de St-Pol (fig. 1) se situe dans le secteur occidental de la baie de Morlaix, dans la ria de la Penzé. Les caractéristiques du milieu révèlent un sédiment hétérogène envasé, soumis à une influence nettement océanique (Riaux et Douvillé, 1980).

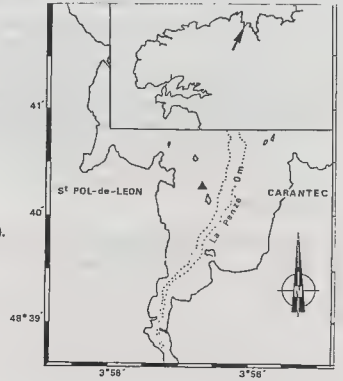


Fig. 1 : Localisation du secteur d'étude (↗) dans la ria de la Penzé (Bretagne-nord).

L'analyse du cycle de reproduction, et notamment des modalités de ponte, est réalisée à partir de deux méthodes complémentaires :

- L'échelle de maturité apporte une information essentiellement qualitative dans la définition des principaux stades du cycle gonadique. Le modèle retenu est l'échelle pratique de Lucas (1965) modifiée par Gallois (1973) et adaptée à *C. edule* (Fernandez *et al.*, 1989). La définition classique des trois stades, A (repos), B (maturation), C (maturité), nécessite les remarques suivantes : le stade A englobe la prévitellogénèse et la régression des gonades, le stade B recouvre les processus de restauration gonadique, rapides poussées ovocytaires après une ponte.

- L'indice de condition procure une information quantitative sur le développement gonadique. Parmi les indices disponibles, celui de Walne et Mann (1975) répond le mieux aux objectifs fixés. Le biais résultant d'une variation de l'allométrie selon la longueur est éliminé par l'analyse de classes de taille standard (Guillou *et al.*, 1990).

L'échantillonnage des juvéniles est réalisé au carottier sur la base de six prélèvements d'une surface unitaire de 1/16 m , tamisés sur maille de 1 mm. L'analyse porte à la fois sur les densités globales de juvéniles inférieurs à 15 mm et sur les recrues inférieures à 2,5 mm. Les données de températures sont fournies par le sémaphore de l'île de Batz, station météoroligique la plus proche du site. L'étude a débuté en 1987 et prend en compte le déroulement de trois cycles annuels.

RESULTATS

L'évolution des stades de maturité gonadique au cours des trois années est représentée sur la figure 2.

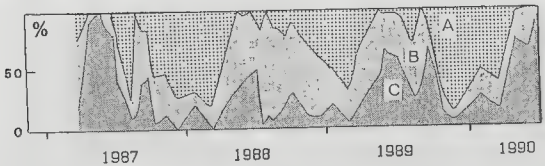


Fig. 2 : Evolution des stades de l'échelle de maturité, A (repos), B (maturation), C (maturité) de 1987 à 1990.

La succession de plusieurs pics au niveau des stades C suggère des pontes partielles et étalées sur la majeure partie de l'année. Elles se poursuivent jusqu'à l'hiver, un taux non négligeable de stades C étant encore observé à cette saison. La prolongation très tardive de cette activité gonadique se traduit par un repos hivernal peu marqué. Les pontes partielles traduisent une absence de

Fig. 3 : Evolution de l'indice de condition chez une classe de taille standard (30 - 35 mm) de 1987 à 1990.

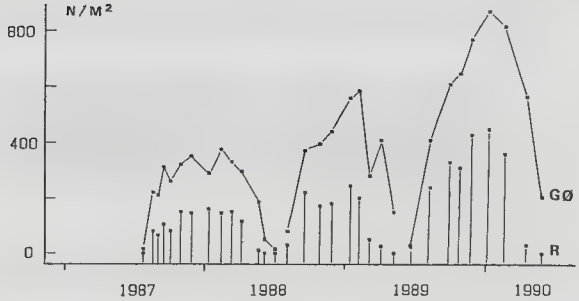


Fig. 4 : Densité des jeunes recrues (R :indiv. entre 1 mm et 2.5 mm) et densité globale de la classe G0 (indiv. entre 1 mm et 15 mm) à l'issue des recrutements de 1987, 1988 et 1989.

synchronisme au sein de la population, mais ce caractère est également observé sur le plan individuel, différents stades pouvant coexister au sein d'une même gonade.

L'aspect quantitatif des phénomènes est appréhendé à travers l'analyse de l'indice de condition (fig. 3). Après un minimum hivernal, l'indice augmente rapidement au printemps. Son maximum est atteint au cours de l'été et sa chute est ensuite largement étalée sur l'automne et une grande partie de l'hiver, ce qui confirme le caractère tardif et durable des pontes. L'évolution de l'indice au cours des trois années montre une nette progression des maxima estivaux entre 1987 et 1989, suggérant ainsi une intensification de la reproduction.

Le recrutement de *C. edule* est analysé au cours de la même période (fig. 4). En raison de l'étalement du phénomène, l'évolution globale des densités de juvéniles (G0) est suivie parallèlement à la récolte des recrues inférieures à 2,5 mm (R). Le phénomène débute de manière significative en fin d'été et se poursuit durant tout l'automne et une partie de l'hiver. Les résultats font apparaître une relation inverse logique entre indice de condition et recrutement, compte tenu du décalage dans le temps relatif au stade larvaire.

Les modalités saisonnières comme interannuelles de la ponte et du recrutement suggèrent l'intervention du facteur climatique. L'action de ce facteur est analysée à travers l'évolution des températures. En raison de la localisation intertidale du gisement, le choix s'est porté sur les températures aériennes. La relation entre la température de l'air et celle de l'eau de mer en zone littorale peu profonde a été ainsi démontrée dans le bassin de Marennes-Oléron (Héral *et al.*, 1986). Les excédents ou déficits thermiques sont mis en évidence par référence à la courbe moyenne établie sur les 35 dernières années (fig. 5).

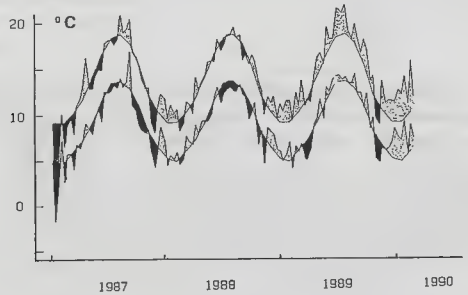


Fig. 5 : Evolution des températures aériennes décadaires minimales et maximales de 1987 à 1990 par référence aux courbes moyennes établies sur les 35 dernières années (sémaphore de l'île de Batz).

L'année 1987 apparaît déficitaire sur le plan thermique, alors que 1988 est très proche de la normale et qu'un excédent thermique apparaît sur l'ensemble de l'année 1989. L'évolution de l'indice de condition laisse supposer l'existence d'une relation avec ces fluctuations thermiques, les valeurs les plus faibles de l'indice étant notamment associées aux températures déficitaires de 1987, alors que les plus fortes correspondent aux valeurs excédentaires de 1989. Au cours de la même période, un parallèlisme très net est également observé entre le gradient de température et les densités de jeunes recrues.

Ces résultats permettent de conclure à une influence prépondérante du facteur climatique sur de déterminisme du recrutement de *C. edule* à St-Pol. Il agit nettement au niveau des processus de reproduction étant donné la relation température-indice de condition. Cependant, son influence à des stades postérieurs tels que les phases larvaire ou postlarvaire ne peut être exclue, comme le suggère la concordance observée entre les variations interannuelles de température et les densités de juvéniles.

DISCUSSION

Les modalités de reproduction de *C. edule* à St-Pol se caractérisent par une succession de pontes partielles qui débutent au printemps et se poursuivent durant l'été et l'automne voire une partie de l'hiver. Le caractère étalé et tardif du phénomène est probablement entretenu par des conditions hivernales particulières au site. Les températures hivernales douces favorisent le maintien d'une activité gamétogénétique tardive conduisant à une absence de véritable repos sexuel, situation préjudiciable à un redémarrage efficace du nouveau cycle. Cette influence de l'activité tardive d'un cycle sur le déroulement du cycle suivant a déjà été signalée chez *C. edule*. (Gimazane et Lubet, 1972). A l'inverse, des températures hivernales basses induisent un net repos hivernal et peuvent ainsi exercer une influence bénéfique sur la reprise du cycle printanier (Guillou *et al.*, 1990).

Les fluctuations interannuelles du cycle de reproduction et des pontes apparaissent étroitement associées aux variations du cycle thermique sur le site breton. L'action directe de la température a pu être démontrée à différents niveaux du cycle reproducteur de bivalves, en particulier l'initiation printanière et la vitesse de la gamétogénèse (Gimazane et Lubet, 1972 ; Lubet, 1981). Cependant, l'influence de ce facteur sur les processus de reproduction doit être également recherchée à travers des interactions avec d'autres facteurs, notamment d'ordre trophique. Sur ce site, *C. edule* révèle un taux de croissance somatique élevé durant le printemps et l'été. L'absence de ponte massive pourrait être alors attribuée à une compétition bioénergétique entre les compartiments gonadique et somatique, mécanisme déjà démontré chez d'autres bivalves suspensivores comme *Pecten maximus* (Lubet *et al*, 1987 ; Paulet, 1989). Le résultat sera d'autant plus évident que les conditions climatiques sont défavorables et que la capacité trophique du milieu apparait comme un facteur limitant. Cette

hypothèse est renforcée par la comparaison avec les autres sites français de la Manche et de l'Atlantique où des pontes massives et plus précoces correspondent à une valeur nettement plus élevée de l'indice de condition (Guillou *et al.*, 1990).

L'influence de la température sur les variations de stock de bivalves a déjà été démontrée par ailleurs (Hancock, 1973 ; Beukema, 1982 ; Dow, 1983). Sur le site breton, une nette concordance est également observée entre les fluctuations thermiques et les fluctuations interannuelles de densités de recrues. Outre une action au niveau de la reproduction, l'influence de la température sur les stades larvaires et postlarvaires ne peut donc être écartée. Il est bien établi que les températures déficitaires traduisent un contexte hydroclimatique (agitation des eaux, déficit d'ensoleillement) défavorable sur le plan de la dispersion des larves (Sinclair, 1988) comme sur celui de leur alimentation (His et Robert, 1985 ; Rothschild, 1986) notamment en raison d'un manque de synchronisme avec le bloom phytoplanctonique. Face à la variabilité des conditions climatiques, et , en particulier de la température, *C. edule* développe une stratégie à caractère opportuniste, déjà décrite chez *C. glaucum* (Lubet et Mann, 1987), l'étalement de la période de reproduction réduisant le risque de décalage avec la production primaire et supprimant celui de surpopulation découlant d'une ponte massive (Mileikovsky, 1971).

REMERCIEMENTS

Ces recherches ont été réalisées dans le cadre du Programme National sur le Déterminisme du Recrutement avec un cofinancement C.N.R.S.- IFREMER.

Baggerman, B., 1953. Spatfall and transport of *Cardium edule*. *Arch. Néerl. Zool.*, 10, 315-342.

Beukema, J.J., 1982. Annual variations in reproductive success and biomass of the major macrozoobenthic species living in a tidal flat area of the Wadden Sea. *Neth. J. Sea Res.*, 16, 37-45.

Desprez, M., Ducrotoy, J.P., Elkaïm, B., Lafite,R., Lemoine, M., et Sueur, F., 1987a. Crise de la production de Coques (*Cerastoderma edule*) en Baie de Somme : Analyse de la reproduction et relations avec l'environnement. *Haliotis*, 16, 327-351.

Desprez, M., Ducrotoy, J.P., et Elkaïm, B., 1987b. Crise de la production des Coques (*Cerastoderma edule*) en baie de Somme. I. Synthèse des connaissances biologiques. *Rev. Trav. Inst. Pêches marit.*, 49, 215-230.

Dow, R.L., 1972. Fluctuations in gulf of Maine sea temperature and specific molluscan abundance. *J. Cons. Int. Explor. Mer*, 34(3), 532-534.

Dow, R.L., 1983. Sea temperature and ocean fish abundance cycles. *Mar. Technology Soc. Jour.*, 17(1), 42-44.

Fernandez Castro, N., Guillou, J., et Le Pennec, M., Cardenas Lopez, J.J.,1989. Le cycle sexuel de *Cerastoderma edule* (Bivalve Cardiidae) à Brouennou (Finistère). *Haliotis*, 19, 325-334.

Franklin, A., 1972. The cockle and its fishery. *Lab. Leafl.* (N.S.), 26, 34pp.

Gallois, D., 1973. Etude de deux Veneridae de l'étang de Thau. *Thèse dr. 3ème Cycle*, Univ. de Montpellier, 121 p.

Gimazane, J.P., et Lubet, P., 1972. Etude expérimentale de l'action de la nutrition, de la température et de la lumière sur le cycle sexuel de *Cardium edule* L. (Mollusque Bivalve). *Bull. Soc. Linn. Normandie*, 103, 137-146.

Guillou, J., Bachelet, G., Desprez, M., Ducrotoy, J.P., Madani, I., Rybarczyk, H., Sauriau, P.G., Sylvand, B., Elkaim, B., et Glémarec, M., 1990. Les modalités de la reproduction de la coque (*Cerastoderma edule*) sur le littoral français de la Manche et de l'Atlantique. *Aquat. Living Resour.*, 3, 29-41.

Hancock, D.A., 1973. The relationship between stock and recruitment in exploited invertebrates. *Rapp. P.V. Réun. Cons. Perm. Int. Expl. Mer*, 164, 113-131.

Hancock, D.A., et Urquhart, A.E., 1964. The determination of natural mortality and its causes in an exploited population of cockles (*Cardium edule* L.), *Fish. Invest. Ser.* II, 24(2), 40 pp.

Héral, M., Prou, J., et Deslous-Paoli, J.M., 1986. Influence des facteurs climatiques sur la production conchylicole du bassin de Marennes-Oléron. *Haliotis*, 15, 193-207.

His, E., et Robert, R., 1985. Développement des véligères de *Crassostrea gigas* dans le bassin d'Arcachon. Etudes sur les mortalités larvaires. *Rev. Trav. Inst. Pêches Marit.*, 47(1), 63-88.

Lubet, P., 1981. Action de la température sur le cycle de reproduction des Lamellibranches. *Bull. Soc. Zool. France*, 106, 288-292.

Lubet, P., et Mann, R., 1987. Les différentes modalités de la reproduction chez les mollusques bivalves. *Haliotis*, 16, 181-195.

Lubet, P., Besnard, J.Y., et Faveris, R., 1987. Compétition énergétique entre tissu musculaire et gonadique chez la coquille St Jacques (*Pecten maximus* L.). *Haliotis*, 16, 173-180.

Lucas, A., 1965. Recherches sur la sexualité des Mollusques Bivalves. *Bull. biol. France et Belgique*, 95, 115-247.

Madani, I., 1989. Dynamique des populations et processus de recrutement chez quatre espèces de bivalves appartenant aux genres *Abra* et *Cerastoderma*, dans le bassin d'Arcachon. *Thèse Doctorat*, Univ. Bordeaux I, 171 pp.

McIntyre, A.D., 1970. The range of biomass of intertidal sand with special reference to the bivalve *Tellina tenuis*. *J. Mar. Biol. Ass. U.k.*, 50, 561-575.

Mileikovsky, S.A., 1971. Types of larval development of marine bottom invertebrates, their distribution and ecological significance : a reevaluation. *Mar. Biol.*, 10, 193-213.

Paulet, Y.M., 1989. Etude qualitative et quantitative de la reproduction de *Pecten maximus* L. en baie de St Brieuc. *Thèse Doct.* U.B.O. Brest.

Riaux, C., et Douvillé, J.L., 1980. Short-term variations in phytoplankton biomass in a tidal estuary in northern Brittany. *Estuarine & Coastal Marine Science*, 10, 85-92.

Rothschild, B.J., 1986. Dynamics of marine fish populations. Harvard University Press, 280 pp.

Sinclair, M., 1988. Marine populations. An essay on population regulation and speciation. Univ. Washington Press, Seattle, 252 pp.

Walne, P.R., et Mann., R., 1975. Growth and biochemical composition in *Ostrea edulis* and *Crassostrea gigas*. *Proc. 9th Europ. Mar. Biol. Symp.*, H. Barnes ed., Aberdeen Univ. Press, 587-607.

Société Française de Malacologie
ASPECTS RÉCENTS DE LA BIOLOGIE DES MOLLUSQUES
Ifremer, Actes de Colloques, no. 13, 1992, p. 39-46

LA VITELLOGENESE CHEZ *PATELLA COERUELAE* LMK (MOLLUSCA, GASTEROPODA). APPROCHE ULTRASTRUCTURALE

BENMERADI N.

Laboratoire de Biologie et Ecologie Marine de l'Institut des Sciences de la nature USTHB, BP n°9 Dar El Beida, ALGER, Algérie.

RESUME : L'observation microscopique de l'ovaire de *Patella coerulea* révèle en période de reproduction, la présence d'ovogonies regroupées en nids noyées dans la trame conjonctive, des ovocytes prévitellogéniques qui se détachent progressivement du tissu conjonctif et des ovocytes vitellogéniques complètement isolés dans la lumière de l'acinus. Dès les premiers stades de la prévitellogenèse, on note une activité nucléolaire en forme de nuages ou nématosomes. A la fin de cette étape, l'ovocyte s'enrichit en organites, mitochondries, réticulum endoplasmique rugueux et des structures de Golgi. On note également l'apparition des premières plaquettes vitellines. C'est au cours de la vitellogenèse qu'apparaissent dans l'ordre suivant : du vitellus lipidique sombre qui semble provenir de la transformation des mitochondries, du vitellus protéique clair toujours associé à des tubes ergastoplasmiques et des lamelles annelées, des granules corticaux renfermant un matériel fibreux en position périphérique, de nature mucopolysaccharide.

Mots clés : vitellogenèse, ultrastructure, mollusque gastéropode marin

VITELLOGENESIS ULTRASTRUCTURAL STUDY IN *PATELLA COERULAE* LMK (MOLLUSCA, GASTEROPODA)

ABSTRACT : *During the reproductive periode, the microscopical observation of* Patella coerulea*'s ovary shows some ovogonies forming neets, supported by a conjonctive network, previtellogenic oocytes which leave gradually the conjonctive tissue and vitellogenic oocytes isolated in the acinus lumen. In early stages of previtellogenesis, an important nucleolar activity, caracterised by cloud-shaped or nematosomes and ribonucleoproteinic extrusions in cytoplasm compartment can be observed. At the end of this stage, the oocyte becomes richer in organites, mitochondria, granular endoplasmic reticulum and Golgi. We futher notice the outcome of the first vitellin platelets. Production of vitellus is higher as three kinds of vitellus are observed in the following order : dark lipidic vitellus which seems to be a consequence of mitochondrial transformation, light proteinic vitellus, always associated with ergastoplasmic structure and annulated lamellae, cortical granule, which contain peripherical fibrous material of mucopolysaccharide nature.*

Keys words : vitellogenesis, ultrastructure, marine gasteropode

INTRODUCTION

La vitellogenèse demeure un sujet de recherche d'actualité et suscite l'intérêt de nombreux auteurs car elle reste mal connue. La complexité de ce phénomène réside dans la diversité des structures vitellines ainsi que leur origine. La terminologie également utilisée pour décrire ces structures vitellines, reste confuse et parfois même fantaisiste.
Lors de notre étude ,nous essayerons de décrire les structures vitellines présentes chez Patella coerulea par l'examen microscopique (photonique et electronique) , de définir leur nature chimique (cytochimie et histochimie) et de comprendre leur mode probable de formation. L'oeuf de Patella coerulea a déjà été étudié par Bolognari (1958,1960a) et Bolognari et coll (1959) par l'examen microscopique sans pour autant bien définir les structures cytologiques en relation avec la synthèse vitelline.

Matériel et Méthodes

L'ovaire de Patella coerulea a été fixé à 4°C par la technique de fixation en un temps donné par Hirsh et Fedorko (1968) adaptée aux Mollusques marins(Mouëza , 1979). Les concentations de glutaraldehyde (1%) et de tétroxyde d'osmium (1%) ont été modifiées dans les proportions préconisées par Glauert (1975) . L'osmolarité du fixateur a été ajustée à 1300 milliosmoles et le pH à 6,8. Après un lavage en solution saline de NaCl à 1300 mosm, le contraste des pièces à l'acétate d'uranyle en solution acqueuse à 2% a été de 30mn. L'inclusion de pièces a été effectuée en araldite (Durcupan, ACM), après une imprégnation par trois bains de une heure à 45°C à l'étuve sous vide. Les coupes ont été réalisées à l'ultratome LKB III et recueillies sur grilles de mesh 100 , revêtues de collodion à 4% . Elles ont été contrastées par le citrate de plomb(Reynolds ,1963) et observées au microscope electronique à transmission HU12.

Résultats

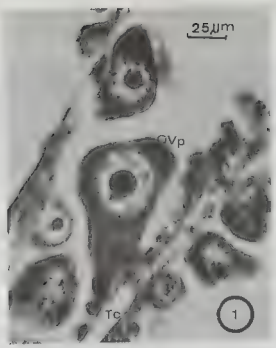
Chez Patella coerulea, la prévitellogenèse est une étape préparatoire à la synthèse du vitellus, elle permet de mettre en place une "machine" de synthèse , puisque les organites dans les jeunes cellules germinales sont rares sinon inexistantes. Par contre, en vitellogenèse, les synthèses débutent et se matérialisent par l'apparition des premières plaquettes vitellines qui caractérisent les ovocytes vitellogéniques.
Lors de cette étude , nous exposerons l'évolution des structures cytologique en rapport avec la vitellogenèse.

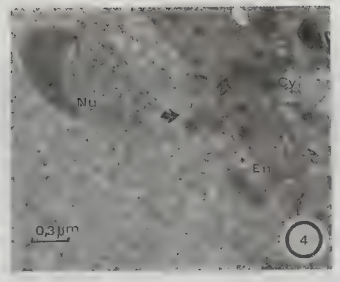
1- Les ovogonies (fig n°3)

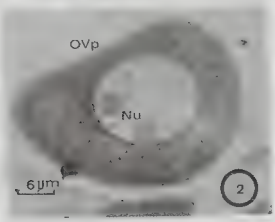
Ce sont les plus petites cellules germinales , de forme ovalaire ne dépassant jamais la taille de 6 um. Leur noyau , volumineux, comporte des filaments grêles. Des amas finement grenus de ribonucléoprotéines (RNP) constituent le nucléole. On retrouve également dans le compartiment cytoplasmique, des amas de RNP sous forme de nuages passant à travers une enveloppe nucléaire munie de nombreux pores. Le cytoplasme est réduit à une étroite frange cytoplasmique presque dépourvue de tout organite. A ce stade, les cellules folliculaires ne sont pas encore organisées autour de l'ovogonie.

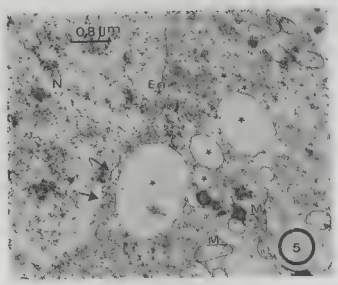
2 - Les ovocytes prévitellogéniques (fig n° 2)

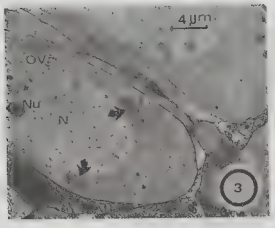
A ce stade , l'ovocyte contient un accroissement important puisque son noyau atteint 70 µm de diamétre .L'ovocyte se libére de plus en plus de la trame conjonctive pour ne rester à la fin rattaché que par une extrémité cytoplasmique allongée en forme de pédoncule. Il est appelé ovocyte pédonculé (fig n° 1).











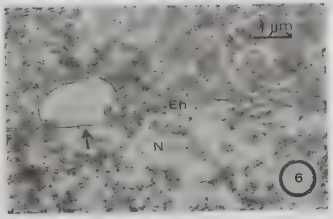
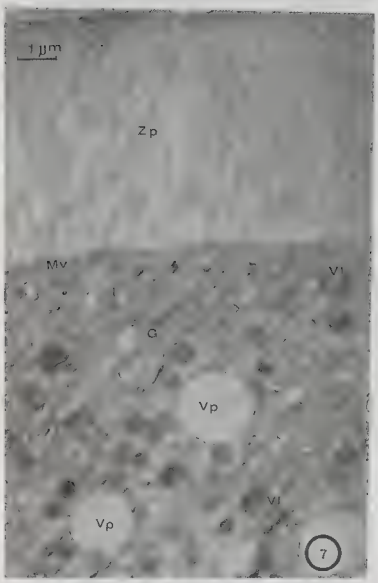
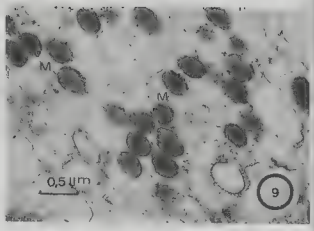
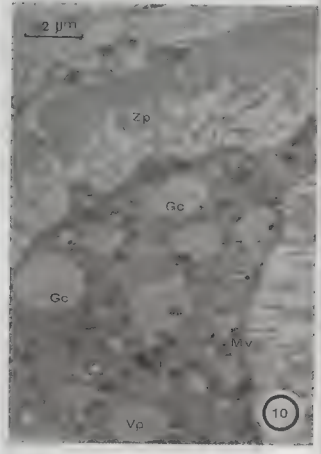
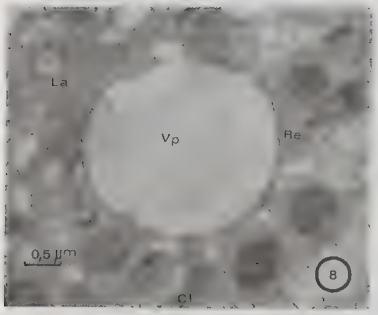


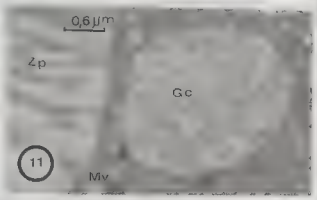
Fig.1 : Ovocyte prévitellogénique (OVP) pédonculé à la trame conjonctive. Coupe semi fine. - Fig.2 : Ovocyte prévitellogénique (OVp) montre une ségrégation nucléolaire (Nu) preuve d'une grande activité de synthèse de R.N.P., coupe semi fine. - Fig.3 : Ovocyte prévitellogénique (OVp). On remarque des extrusions (⇒) de matériel nucléolaire dans le compartiment cytoplasmique. - Fig.4 : le nucléole (Nu) participe à la formation des ribonucléoprotéines (RNP) (⇒) qui transitent par l'enveloppe nucléaire (En) pour passer dans le cytoplasme (Cy).(M.E.T.) - Fig.5 : Dilatation (⟶) de l'enveloppe nucléaire (En) formant des bleb, puis des vésicules (*) qui contribuent à former du réticulum de forme vésiculaire. (M.E.T.) - Fig.6 : Détail d'une dilatation (⟶) de l'espace intermembranaire au niveau de l'enveloppe nucléaire (En). (M.E.T.)


1 µm
Zp
Mv
Vl
G
Vp
Vp
Vl
7


M
M
0,5 µm
9


2 µm
Zp
Gc
Gc
Mv
Vp
10


La
Vp
Re
0,5 µm
8
Cl


0,6 µm
Zp
Gc
11
Mv

Le noyau est peu chromophile, son nucléole connait une forte activité marquée par :

* la multiplication du nombre de pores par unité de surface
* une forte activité d'échange existe entre le noyau et le cytoplasme , par le passage de ribonucléoprotéines (RNP).

Effectivement, la coloration de Mann Dominici faite sur coupes semi fines après extraction de la résine par un mélange d'alcool éthylique et de soude, nous a permis de mettre en évidence des amas cytoplasmiques fortement basophiles (fig n° 2). Cette basophilie, d'abord localisée en quelques zones du cytoplasme ovocytaire, devient plus homogéne et permet d'observer sur les coupes fines de nombreux ribosomes libres.

Le réticulum endoplasmique n'apparait qu'en fin de prévitellogenèse. Il est de forme vésiculaire et semble provenir des dilatations de l'enveloppe nucléaire connues dans la littérature scientifique sous le nom de "Blebs" Kessel (1965) ; Dhainaut (1966) et Norrevang (1968) (fig 5 et 6). En fin de prévitellogenèse apparaissent également de nombreux dictyosomes de formes diverses. Les saccules golgiens se dilatent et donnent par bourgeonnement des vésicules allant de 0,15 à 0,35 um de diamétre. Ces dictyosomes se positionnent en général dans la région corticale ovocytaire. Le nombre de mitochondries se multiplie durant ce stade. Elles ont une matrice claire et un nombre réduit de crêtes . Tout au long de ce stade ,les cellules folliculaires périphériques en nombre de 5 à 6 s'applatissent au cours de l'accroissement ovocytaire.

3 - Les ovocytes vitellogéniques

Durant la vitellogenèse , l'ovocyte accumule de nombreuses enclaves vitellines. Les coupes semi fines révèlent que le cytoplasme ovocytaire devient graduellement acidophile. Il atteint une taille moyenne de 130 à 180 um et perd tout contact avec le tissu conjonctif interstitiel se trouvant par là ,libre dans la lumière de l'acinus ovarien.

Le noyau, de forme trés irrégulière, présente de nombreuses dépressions, l'activité génératrice du nucléole est ralentie . Dans le cytoplasme s'accumulent trois types d'inclusions d'aspect , d'origine et de nature différents. Les premières apparues sont lipidiques,puis protèiques et enfin les granules corticaux.

a) vitellus lipidique

En fin de prévitellogenèse et se continue en vitellogenèse, un processus complexe de transformation des mitochondries en grains vitellins lipidiques. Après que le nombre de crêtes augmente et que la matrice soit devenue dense , les membranes mitochondriales (externes et internes) ne deviennent plus visibles (fig 9). Ces lipochondries gonflent légérement pour devenir en fin de vitellogenèse des enclaves vitellines d'une taille maximale de 0,8 um de forme sphéroïde, non limitées par une membrane dont la région centrale est nettement plus dense que la périphérie (fig 7 et 8).

Fig.7 : Vue d'ensemble d'une portion du cytoplasme d'un ovocyte vitellogénique, montrant l'accumulation du vitellus protéique (Vp) et vitellus lipidique (VI) et l'appareil de Golgi (G). Sa membrane plasmique forme des microvillosités (Mv). On note une zone pellucide (Zp) épaisse. (M.E.T.) - Fig.8 : Détail du vitellus protéique (Vp) en relation avec le réticulum endoplasmique (Re) et les lamelles annelées (La). Présence de vitellus lipidique (VI).(M.E.T.) - Fig.9 : Transformation des mitochondries (M) en grains vitellins (M.E.T.) - Fig.10 : Partie corticale d'un ovocyte juste avant la ponte, ayant une zone pellucide (Zp) épaisse et des granules corticaux (Gc). (M.E.T.). - Fig 11 : Détail d'un granule cortical (Gc) à proximité des microvillosités (Mv). M.E.T.)

La coloration des coupes semi fines montre la présence d'inclusions soudanophiles de tailles identiques aux inclusions vitellines que nous venons de décrire en ultrastructure, ce qui confirmerait que ces inclusions vitellines sont de nature lipidique.

b) vitellus protéique

Ce n'est qu'en fin de vitellogenèse qu'apparaissent dans le cytoplasme de nombreuses et volumineuses inclusions de 2 à 3 um de diamétre , délimitées par une membrane unitaire. Ces inclusions sont toujours bordées par une ou plusieurs lamelles ergastoplasmiques , ainsi que des lamelles annelées (fig 7 et 8)
Les coupes semi fines , soumises à la coloration acide périodique -Schiff et après le test de Mc Manus, confirment que ces inclusions vitellines sont de nature protéique. L'examen des inclusions vitellines protéiques montre qu'elles sont d'aspect clair, nettement plus volumineuses que les inclusions vitellines lipidiques et sont réparties de façon homogéne dans le cytoplasme (fig 7) .

c) Granules corticaux

Les granules corticaux sont caractéristiques de l'ovocyte mûr, prêt à être pondu . Ils occupent toujours une position périphérique à proximité de la membrane plasmique ovocytaire. Ce sont les dernières inclusions vitellines à apparaitre. Elles sont délimitées par une membrane unitaire et peuvent atteindre la taille de 3 um. Chez P. coerulea les granules corticaux renferment un matériel filamenteux , peu dense. Ces granules semblent provenir des dictyosomes situés dans la région corticale et toujours orientés vers la membrane plasmique (fig 7-10 et 11). L'examen des coupes semi fines, après coloration P.A.S et soumises au test de Mc Manus, révèle leur nature mucopolysaccharidique.

DISCUSSION

La prévitellogenèse est une phase essentiellement nucléaire. C'est pour cela que l'ovocyte prévitellogénique de P. coerulea est caractérisé par les phénoménes suivants:

- augmentation du volume nucléaire
- multiplication des nucléoles
- apparition d'extrusions nucléolaires (R.N.P)
- affinité du cytoplasme aux colorants basophiles.

Gabe et Prenant ,(1949) ont déjà fait ressortir chez les Polyplacophores ,le synchronisme des modifications cytoplasmiques et nucléaires. Ils font remarquer que l'augmentation de la taille du nucléole s'accompagne d'une basophilie cytoplasmique. Ces mêmes observations ont été faites par Franc (1950 et 1951) chez d'autres Mollusques. Chez Patella coerulea , la basophilie cytoplasmique s'accentue tout au long de la prévitellogenèse , mais elle est répartie de manière hétérogéne, puisqu'on note des plages plus basophiles que d'autres. Effectivement, les observations de microscopie electronique nous ont permis de mettre en évidence des extrusions nucléolaires à travers l'enveloppe nucléaire munie d'un grand nombre de pores . Ces extrusions restent regroupées en nuages denses, dans le compartiment cytoplasmique. Dans son étude bibliographique Norrevang (1968) décrit l'existence de ces nuages de RNP cytoplasmiques pour de nombreuses espéces de Mollusques ou d'autres invertébrés ainsi que chez les vertébrés.

Weakley (1976) avance même que ces nuages de RNP sont des structures universelles des cellules germinales. Généralement ces nuages de RNP sont associés à des mitochondries par de nombreux auteurs . Bazzo (1982); Bruslé (1980); Durfort (1983) et Azevedo (1984) suggérent que ces nuages permettraient le regroupement de plusieurs mitochondries , devenant un véritable "ciment intermitochondrial". Ce ciment activerait la multiplication des mitochondries. Chez P. coerulea , nos constatations sont différentes puisque les nuages de RNP ne sont jamais associés aux mitochondries, ce qui n'empêche pas les mitochondries de se multiplier tout au long de la prévitellogenèse.
Au cours de la vitellogenèse de P. coerulea , on observe trois types de structures vitellines : lipidiques, protéiques et granules corticaux (MPS).
Le vitellus lipidique de P. coerulea semble provenir de la transformation des mitochondries. Dès 1962, Humphreys signale l'intervention des mitochondries dans la formation du vitellus lipidiques chez la moule Mytilus edulis. L'aspect de ce vitellus parait différent d'une espéce à une autre puisque chez la Patelle, il apparait constitué d'une zone centrale dense, entourée par une zone périphérique claire. Par contre Busson - Mobillot (1969) le décrit chez un grand nombre d'espéces avec une partie périphérique plus dense.
Le vitellus protéique apparait chez P. coerulea comme un corps clair limité par une membrane unitaire associée toujours à l'ergastoplasme et parfois à des lamelles annelées. Chez les Mollusques , Anderson (1965) et Griffond (1980) décrivent des vésicules vitellines homogénes denses et limitées par une membrane unitaire.
Les granules corticaux présentent des aspects ultrastructuraux très divers dans le régne animal. Ces organites sont toujours limités par une membrane. Ils sont de forme ovoide ou sphérique Dhainaut (1966). Dans le groupe des Mollusques les résultats sont peu nombreux . Pasteels et De Harven (1962) pour Barnea candida et Humphreys (1962) pour Mytilus edulis , décrivent des granules corticaux limités par une membrane nette contenant un matériel finement grenu, très comparable à ceux observés chez P.coerulea.

Anderson E. ,1965 - Events associated with differentiating oocytes in two species of amphineurans (Mollusca) . Mopalia mucosa and Chaetopleura apiculata. J. Cell Biol.,(27),5A.

Azevedo C. , 1984 - Development and ultrasructural autoradiographic studies of nucleolus - like bodies in oocytes of a viviparus teleost Xiphophorus helleri. Cell Tissue Res. , (238) : 121 - 128

Bazzo M.G. , 1982 - Estudi ultrastructural dels processos oogenetic i espermatogenic de Terebratula vitrea (Gmelin) . Tesi Doctor en Biologie , Barcelona.

Bolognari A.,1958 - Caratteri ultrastrucluralì dell'apparate nuclealare degli ovociti di Patella coerulea L. durante il loro accrescimento . Società Pelvritane di scienze fisiche materariche e naturali, IV , Fasc III-IV: 367-375.

Bolognari A. ,1960a Yolk formation in oocytes of Patella coerulea L. and Aplysia depilans L. observed in the electron microscope . Nature , 186: 490-491.

Busson -Mobillot S. 1969 - Données récentes sur la vitellogenèse . L'année Biologique , VIII, Fasc. 3-4 : 199 - 222.

Dhainaut A. , 1966 - Etude ultrastructurale de l'évolution cytoplasmique au cours des premiers stades de l'ovogenèse chez Nereis pelagica L. (Annelide polychéte). C.R. Acad. SCI. , Paris , 262 : 2616 - 2619

Durfort M. , 1980 - La vitellogenesis en Cyclops strenuus Fischer (Crust. Copepoda) I- fasc Endogena o Primaria . Bol. R. Soc. Espanola Hist. Nat. Biol., 78 : 437- 447.

Durfort M. , 1983 - El cos Cromatoïde o nematosoma en els oocits de crustacis. Biol. del Desenvolupament , I: 107-114

Franc A. , 1950 - Structure et particularités histochimiques du nucléole des ovocytes de Mollusques Prosobranches . C.R. Acad. Sci. , Paris.

Franc A. , 1951 - Ovogenèse et évolution nucléolaire chez les Gastéropodes Prosobranches. Ann. Sci. Nat. B Zool. , XIII, Fasc - I: 135-142.

Gabe M. et Prenant M. , 1949 - Contribution à l'histologie de l'ovogenèse chez les Polyplacophores. la cellule , 53 : 99-116

Glauert A. , 1975 - Practical methods in electron microscopy . Elsevier Publ. ,207p.

Grlffond B. , 1980 - la vitellogenèse chez la paludine Viviparus viviparus L. (Moll. Gast. Prosobr.) Bull. Soc. Zool. Fr. , 105 (3): 401 - 407.

Hirsch J. G. et Federko M.A. , 1968 - Ultrastrucutre of human leucocytes after simultaneous fixation with glutaraldehyde and osmium tetroxyde and post - fixation in uranyl acetate. J. Cell Biol. , 38 : 615-627.

Humphrey W. J. , 1962 - Electron microscope studies on eggs of Mytilus edulis . J. Ultrastruct. Res. , 7 : 467-487.

Kessel R. G. , 1965 - Cytodifferenciation in ascidian oocytes . Anat. Rec. , 151 : 371 -382.

Mouëza M, 1979 - La fixation de Hirsch et Federko : méthode de routine méconnue . Bull. Soc. Hist. Nat. , Afrique du Nord, 70 : 73-79.

Norrevang A. , 1968 - Electron microscope morphology of oogenesis. Int. Rev. Cytol. ,23 : 113-186.

Pasteel J. J. et De Harven E. , 1962 - Etude au microscope electronique du cortex de l'eouf de Barnea candida et son évolution au moment de la fécondation , de la maturation et de la ségmentation . Arch. Biol. , 73 : 465-490

Reynolds E.S. , 1963 - Contraste des coupes fines au citrate de plombs . J. Cell Biol., 17:208-212

Weakley B.S. , 1976 - Variation in mithochondrial size and ultrastructure during germ cell development. Cell Tissue Res. 169 : 531-550

Société Française de Malacologie
ASPECTS RÉCENTS DE LA BIOLOGIE DES MOLLUSQUES
Ifremer, Actes de Colloques, no. 13, 1992, p. 47-56

5

ETUDE EXPERIMENTALE DE LA MATURATION OVOCYTAIRE CHEZ *PECTEN MAXIMUS* ET *CRASSOSTREA GIGAS* (MOLLUSCA, BIVALVIA)

WIDOWATI I.[1], COCHARD J.C.[2],DORANGE G.[1] et LE PENNEC M.[1].

[1] *Laboratoire de Biologie Marine, Faculté des Sciences, U.B.O., 29287 BREST Cédex*

[2] *Laboratoire PMDC, IFREMER, Centre de Brest, BP 70, 29280 PLOUZANE*

RESUME : La fécondation *in vitro* des ovocytes prélevés par scarification de la gonade de géniteurs matures s'est jusqu'à présent révélée impossible chez *Pecten maximus*, contrairement à ce qui est généralement constaté en écloserie pour *Crassostrea gigas*. Pour tenter d'expliquer cette différence, les évènements qui se déroulent entre le début de la stimulation de ponte et la fécondation ont été étudiés expérimentalement chez ces deux espèces. Des essais de fécondation et d'élevage larvaire (48h) ont été réalisés sur des ovocytes prélevés par scarification de la gonade, par ponction dans les voies génitales (*P.maximus*) et enfin sur les ovocytes émis. Les gamètes femelles des divers lots ont été systématiquement observés sur coupe semi-fines. Chez *P.maximus* l'aspect de la vésicule germinale des ovocytes en cours d'expulsion de la glande génitale a également été examiné sur coupes sériées d'une gonade fixée en tout début de ponte. Il apparaît que chez *P.maximus* les ovocytes prélevés *in situ* ne sont fécondables et viables que lorsqu'ils proviennent d'individus ayant commencé à pondre. L'histologie révèle que la maturation ovocytaire (rupture de la vésicule germinale) se produit dans les acini immédiatement avant le début de l'expulsion des premiers ovocytes dans le milieu. Ce phénomène a lieu au même moment chez *C.gigas* mais, pour cette espèce, la maturation des ovocytes prélevés par scarification peut être déclenchée *in vitro* par le sperme lui-même.

Mots clés : ***Pecten maximus, Crassostrea gigas*, maturation ovocytaire**

EXPERIMENTAL STUDY OF OOCYTIC MATURATION IN *PECTEN MAXIMUS* AND *CRASSOSTREA GIGAS* (MOLLUSCA, BIVALVIA)

ABSTRACT : *To date, it has been impossible to fertilize the oocytes of ripe* Pecten maximus *obtained by gonad stripping as it is routinely done in hatchery with* Crassostrea gigas. *The events occuring between artificial induction of spawning and normal fertilization were studied experimentally in order to explain this difference. Fertilization and rearing trials were performed on oocytes obtained from the gonads of both species by scarification, by aspiration from genital ducts (of* P.maximus *only) and after spawning. Every batch of oocytes was fixed for histological study. Serial sections of the gonad of a fixed spawning* P.maximus *were made to reveal modifications of the nucleus of the oocytes during their expulsion. In* P.maximus *the stripped oocytes can be fertilized and are viable only when spawning is initiated. Histological sections show that germinal vesicle breakdown occurs at this very moment. The same was oserved in* C.gigas *but it appears that in this species sperm can also induce the oocyte maturation of stripped oocytes.*

Keywords : ***Pecten maximus, Crassostrea gigas*, oocytic maturation**

INTRODUCTION

Le procédé classiquement utilisé en écloserie pour induire le déclenchement des émissions gamétiques est la stimulation des reproducteurs par chocs thermiques, d'amplitude variable selon les espèces (Le Pennec, 1981).

Dans un but de simplification des techniques et de gain de temps, d'autres méthodes d'obtention des gamètes ont été utilisées en écloserie. Tel est le cas du prélèvement direct par scarification de la gonade pratiqué en routine pour l'huître *Crassostrea gigas* (Langdon, 1983).

Contrairement à ce qui est généralement constaté chez *C. gigas*, il s'est avéré jusqu'à présent impossible chez la coquille Saint-Jacques *Pecten maximus*, de féconder les ovocytes prélevés directement dans la gonade d'individus sexuellement matures que ces derniers aient été stimulés ou non (Cochard, données non publiées).

Chez les Bivalves, les ovocytes sont, comme pour la plupart des espèces, bloqués soit en prophase I de la meïose soit en métaphase I jusqu'à l'émission et la fécondation (Longo, 1983; Lucas, 1984; Giese et Kanatani, 1984). Une liste des bivalves appartenant à chacune de ces catégories a été dressée par Longo (1983). Mais les données de la littérature apparaissent souvent contradictoires. C'est notamment le cas pour *Crassostrea virginica*, dont les ovocytes seraient émis au stade prophase I selon Galtsoff (1964), Raven (1966), Costello et Henley (1971) et après la reprise de meïose selon Longwell et Stiles (1968). Le stade prophase I est caractérisé par la présence d'un volumineux noyau, la vésicule germinale. La rupture de cette vésicule germinale, en réponse à divers stimuli, est le marqueur cytologique de la maturation ovocytaire. Après la rupture de la vésicule germinale et la reprise de meïose, les ovocytes subissent généralement un deuxième blocage en métaphase I, stade auquel ils deviennent fécondables (Longo, 1983).

Afin de mieux comprendre les événements qui se déroulent entre le début de la stimulation de ponte et la fécondation, chez la coquille Saint-Jacques *Pecten maximus* et l' huître *Crassostrea gigas*, une étude expérimentale a été menée en écloserie. Des élevages larvaires et des observations histologiques ont été effectués à partir d'ovocytes prélevés dans des conditions différentes, dans la gonade, les voies génitales et le milieu extérieur.

MATERIEL ET METHODES

Les huîtres proviennent du bassin de Marennes-Oléron ou de l'Aber Benoît et les coquilles Saint-Jacques de la Rade de Brest. Ces animaux ont été conditionnés en écloserie. Les reproducteurs ont été débarrassés de leur épifaune par un brossage rapide puis des chocs thermiques ont été effectués. Pour l'huître, la température de l'eau a été rapidement augmentée de 20 °C à 30 °C puis rabaissée à 20 °C au bout de 30 minutes en cas d'absence d'émission gamétique. Les chocs thermiques se sont poursuivis jusqu'à l'expulsion des gamètes. Pour la coquille Saint-Jacques, les températures minimale et maximale ont été respectivement de 17 °C et 24 °C. Dès les premières émissions, les géniteurs ont été abondamment rincés par de l'eau de mer filtrée à 1 µm puis isolés dans des béchers où ils ont continué à émettre leurs gamètes. Les ovocytes émis par chaque géniteur ont été échantillonnés après passage au travers d'un tamis de 80 µm qui retient les fèces. Le sperme émis par plusieurs individus a aussi été recueilli.

La scarification de la gonade a été effectuée par incision légère du tégument. Les ovocytes ont été récupérés par lavage de la glande génitale avec de l'eau de mer filtrée à 1 µm. Ils ont ensuite été tamisés à 80 µm. Des huîtres mâles ont également été scarifiées pour réaliser un mélange de sperme.

Afin de suivre l'évolution des ovocytes dans la gonade de *C. gigas* entre le début de la stimulation de ponte et l'émission, une centaine d'huîtres a été mise en expérimentation. Au temps t=0 , des ovocytes ont été prélevés chez 5 individus. Des prélèvements ont aussi été effectués systématiquement sur 5 individus, 15 minutes, 30 minutes, 45 minutes et 2 heures après le début des stimulations. Les ovocytes des différents géniteurs ont été mélangés dans chaque cas.

Pour la coquille Saint-Jacques, comme pour l'huître, des gamètes femelles ont aussi été prélevés par scarification de la gonade. Par ailleurs, des ponctions à la seringue ont été réalisées chez des individus en début de ponte dans les voies génitales, les gonoductes et les reins, qui sont aisément repérables par la présence d'ovocytes colorés. Les ovocytes émis ont aussi été étudiés.

Dans tous les cas les ovocytes ont été fécondés par addition d'un mélange de sperme de plusieurs mâles selon la méthode décrite par Gruffydd et Beaumont (1970). La fécondation des ovocytes a été vérifiée par observation des globules polaires. Les oeufs ont été mis en élevage selon leur abondance dans des béchers de 2 l ou dans des bacs cylindro-coniques de 150 l ou de 450 l remplis d'eau de mer filtrée à 1 µm. Dans les bacs, un bullage a été assuré en permanence. La densité des embryons était de 30 000 par litre (Calabrese et Davis, 1970). Les larves atteignent le stade véligère ou larve D au bout d'environ 24 heures à 25 °C pour les huîtres (Fujita, 1929) et de 48 heures à 18 °C pour les coquilles Saint-Jacques (Le Pennec, 1974).

L'analyse des données a été faite sur les taux d'éclosion de géniteurs stimulés et non stimulés pour *C. gigas*. Les comparaisons statistiques (test t) ont été effectuées sur les transformés arcsinus des données (Scherrer, 1984; Steel et Torrie, 1980) après vérification de la normalité (Scherrer, 1984). La même transformation arcsinus a été appliquée aux données concernant *P. maximus* avant une analyse de variance à un critère de classification (Scherrer, 1984). Une régression linéaire simple a été utilisée sur les taux d'éclosion d'ovocytes prélevés par scarification de géniteurs stimulés de *C. gigas* pendant des temps variables (Scherrer, 1984).

Les ovocytes des divers lots ont été fixés au glutaraldéhyde 2,5 % en tampon cacodylate 0,2 M (pH 7,3) dont l'osmolarité est de 1100 mOsm, postfixés au tétroxyde d'osmium 1 % dans ce même tampon puis inclus en résine de Spurr (Spurr, 1969). Des coupes semi-fines de 1 µm d'épaisseur ont été confectionnées et colorées au bleu de toluidine.

Enfin, la gonade d'une coquille Saint-Jacques en tout début de ponte et celle d'un individu stimulé mais n'ayant pas pondu ont été fixées au Bouin. Elles ont été incluses dans la paraffine et débitées en coupes sériées qui ont été colorées par le trichrome de Masson (Gabe, 1968).

LEGENDE DE LA PLANCHE 1

Crassostrea gigas

Photo 1 : Coupe semi-fine colorée au bleu de toluidine d'ovocytes prélevés dans la gonade avant stimulation thermique. La vésicule germinale (↓) est visible.

Photo 2 : Coupe semi-fine d'ovocytes prélevés dans la gonade après 2 heures de stimulations thermiques d'un géniteur n'ayant pas pondu : présence de la vésicule germinale (↓).

Photo 3 : Coupe semi-fine d'ovocytes émis : rupture de la vésicule germinale.

Pecten maximus

Photo 4 : Vésicule germinale rompue . Fuseaux de division (↓) dans un ovocyte présent dans un rein. Des spermatozoïdes (↓↓) sont visibles autour de l'ovocyte.

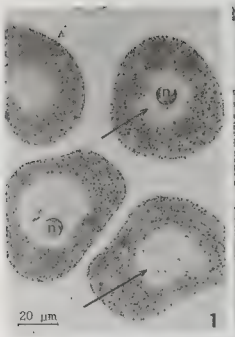
Photo 5 : Coupe en paraffine de la gonade d'une coquille en début de ponte. Absence de vésicule germinale dans tous les ovocytes du centre de l'acinus (↓). Présence de cette vésicule dans les ovocytes plus jeunes de la périphérie(↓↓).

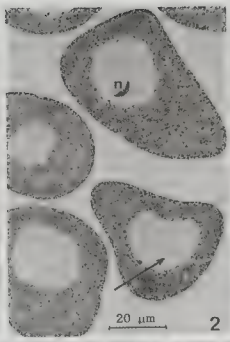
Photo 6 : Vésicule germinale rompue, fuseaux de division (↓) dans deux ovocytes du centre d'un acinus gonadique.

Photo 7 : Coupe en paraffine d'une gonade de coquille stimulée mais n'ayant pas pondu. La vésicule germinale (↓) est visible dans tous les ovocytes.

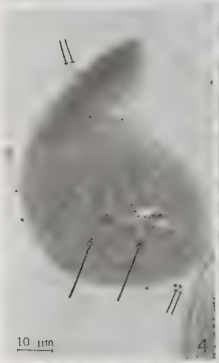
Photo 8 : Coupe en paraffine de gonade d'une coquille en début d'émission de spermatozoïdes (↓). La vésicule germinale (↓↓) est visible dans tous les ovocytes presents dans les acini gonadiques.

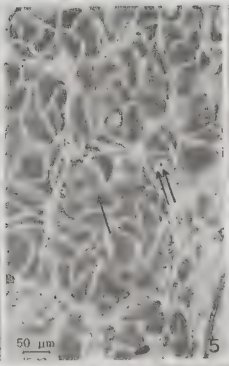
A : acinus
E : épithelium cilié du gonoducte
G : gonoducte
n : nucleole

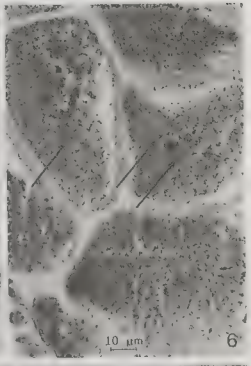

n
n
20 µm
1

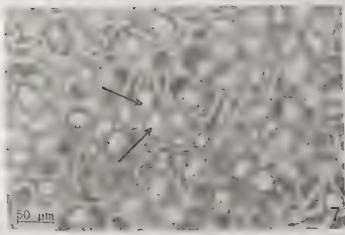

n
20 µm
2

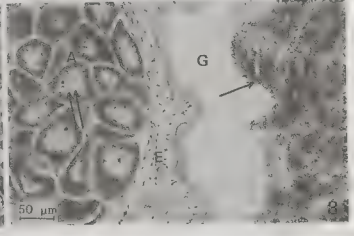
20 µm
3


10 µm
4


50 µm
5


10 µm
6


50 µm
7


G
E
50 µm
8

RESULTATS

Crassostrea gigas

Sur les coupes semi-fines, la vésicule germinale est visible dans les ovocytes prélevés par scarification de la gonade avant stimulation thermique (pl. 1, ph. 1). C'est aussi le cas pour les gamètes femelles prélevés à intervalles de temps réguliers (15 min, 30 min, 45 min, 2 heures) après le début des stimulations (pl. 1, ph. 2). En revanche, la vésicule germinale est absente dans les ovocytes fixés après émission et des fuseaux de division sont observés dans les gamètes (pl. 1, ph. 3).

Les essais de fécondation et d'élevage larvaire réalisés sur les ovocytes prélevés par scarification ou émis ont donné les résultats regroupés dans le tableau 1 et l'histogramme 1. Dans le tableau 1, il apparaît que le taux d'éclosion est d'environ 87 % lorsque les ovocytes ont été normalement émis. Il est significativement plus faible après scarification : 59 % en moyenne (α = 0,05). Les résultats de l'histogramme 1 confirment la valeur significativement inférieure du taux d'éclosion des ovocytes obtenus par scarification et montrent que ce taux n'évolue pas au cours de la stimulation (pente= - 0,01, r = - 0,11).

Pecten maximus

Sur les coupes de gonade de la coquille Saint-Jacques stimulée mais n'ayant pas pondu, la vésicule germinale est présente dans tous les ovocytes (pl. 1, ph. 7), y compris dans ceux d'apparence mature du centre des acini (pl.1, ph. 7). Des spermatozoïdes sont pourtant en cours d'émission et remplissent les conduits évacuateurs (pl. 1, ph. 8).

L'observation des coupes sériées de la gonade de *P. maximus* fixée en début de ponte montre en revanche la disparition de la vésicule germinale et la présence de fuseaux de division dans la quasi-totalité des ovocytes présents dans les voies génitales: gonoductes et reins (pl. 1, ph. 4). Il en est de même pour certains ovocytes encore présents au centre des acini femelles (pl. 1, ph. 5 et 6) ou situés à proximité des conduits évacuateurs. Le noyau est cependant visible dans les gamètes immatures de la périphérie des acini (pl. 1, ph. 5).

L'observation des coupes semi-fines d'ovocytes prélevés, après émission dans l'eau de mer, dans la gonade, les gonoductes et les reins de géniteurs en début de ponte, donne les même résultats : absence de vésicule germinale et présence de fuseaux de division dans la plupart des gamètes femelles des différents lots. La vésicule germinale est en revanche visible dans les ovocytes prélevés dans la gonade de géniteurs non stimulés ou stimulés mais n'ayant pas pondu.

Les taux d'éclosion obtenus à deux jours pour les différents géniteurs et les divers lots d'ovocytes sont regroupés dans le tableau 2.

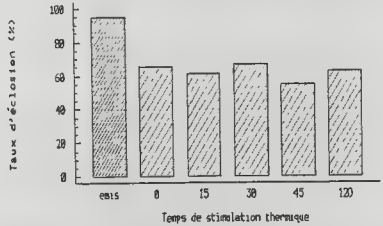
Les valeurs apparaissent très variables pour chaque prélèvement. En ce qui concerne les ovocytes obtenus par scarification de la gonade d'un individu non stimulé, le taux d'éclosion est nul. Pour les animaux ayant commencé à pondre, le taux d'éclosion varie entre 0 % et 82 %. Pour les gamètes prélevés dans les voies génitales de ces individus, il varie entre 0,7 % et 62 %. De même pour les ovocytes émis, on constate aussi une grande variabilité du taux d'éclosion : entre 4 % et 70 %. Mais, malgré ces différences,il peut être retenu que des larves D ont été obtenues pour tous les types de prélèvements réalisés chez les individus ayant commencé à pondre.

No.	Géniteurs non stimulés Ovocytes prélevés par scarification de la gonade	Géniteurs stimulés Ovocytes émis
1	-	96,0
2	-	100,0
3	-	81,0
4	-	53,5
5	-	92,0
6	-	100,0
7	62,0	-
8	64 5	-
9	60,0	-
10	66,0	-
11	27,0	-
12	77 0	-
Moyenne	59,4	87,1
Ecart type	15,5	16,3

Tableau 1. Taux d'éclosion pour *Crassostrea gigas* (%). Géniteurs stimulés et non stimulés. Les transformées arcsinus des valeurs obtenues comparées par le test t diffèrent significativement au seuil de 95%.

No.	Ovocytes prélevés *"in situ"*			Ovocytes émis
	Gonade	Gonoducte	Rein	
1	0	-	-	-
2	0	-	62,0	27,5
3	0	-	-	53,0
4	1,5	6,5	13,0	4,0
5	0	-	-	25,5
6	81,5	0,7	56,5	69,5
7 (lot)	19,5	39,5	4,5	58,5

Tableau 2. Taux d'éclosion pour *Pecten maximus* (%). Géniteurs non stimulés (1) et stimulés (2 à 7). Données transformées (arcsinus) comparées par analyse de variance. Les valeurs ne diffèrent pas significativement au seuil de 95%.



Histogramme 1. Evolution du taux d'éclosion au cours de la stimulation thermique. Comparaison avec les ovocytes émis. Le taux d'éclosion n'évolue pas significativement au cours du temps au seuil de 95% (pente = 0,01 ; r = 0,11).

DISCUSSION

Les expériences réalisées au cours de ce travail confirment que chez *C. gigas* il n'est pas nécessaire d'induire la ponte chez des individus matures pour réaliser avec succès des fécondations.

L'étude histologique révèle que les gamètes femelles de *C. gigas* prélevés par scarification de la gonade avant ou pendant la stimulation thermique possèdent encore leur vésicule germinale. Cette dernière s'est en revanche rompue dans les ovocytes émis conformément à l'observation de Longwell et Stiles (1968) chez *C. virginica*. Cependant, les résultats des élevages larvaires effectués à l'aide d'ovocytes obtenus par scarification montrent que la fécondation peut avoir lieu chez *C. gigas* quelque soit l'état de la vésicule germinale, comme c'est le cas chez *Crassostrea echinata* (Wada, 1968), *Spisula sachalinensis* et *Mactra sulcatoria* (Ginsburg, 1974).

Il semble que la rupture de la vésicule germinale de *C. gigas* se produise dans les acini immédiatement avant le début de l'expulsion des premiers ovocytes dans le milieu. Cette donnée devra être confirmée par l'examen histologique d'une huître fixée en début de ponte, dès l'émission des premiers ovocytes.

Le sperme de *C. gigas* est capable de lever le blocage de meïose. Une étude expérimentale s'avère nécessaire pour déterminer le mécanisme de reprise de meïose.

En ce qui concerne *P. maximus*, les résultats des expériences réalisées en écloserie , corrélés aux données histologiques, montrent qu'au cours des pontes induites, les ovocytes de ce bivalve ne sont pas émis bloqués au stade prophase I comme l'indiquaient Gruffydd et Beaumont (1970). La rupture de la vésicule germinale et l'apparition des fuseaux de division indiquant la fin de la prophase et la reprise de meïose, se produisent en effet dans les ovocytes encore présents dans la gonade et pas seulement après la ponte comme le pensaient Raven (1966) et Gruffydd et Beaumont (1970). Ces observations sont conformes à celles de Mason (1958), dont les explications, non basées sur l'expérience, ne paraissent cependant pas satisfaisantes : cet auteur émet en effet l'hypothèse qu'au cours de la ponte, l'eau de mer remonterait les voies génitales vers les acini et que le contact avec l'eau serait à l'origine de la reprise de meïose. Cette explication est à l'évidence insuffisante : aucune reprise de meïose n'est en effet constatée sur les ovocytes prélevés par scarification sur des géniteurs non stimulés et mis au contact de l'eau de mer. Mais la maturation ovocytaire se produit seulement au moment précis, donc juste avant l'apparition des premiers ovocytes dans le milieu. Ceci est en accord avec Longo (1983), puisque dans les coquilles Saint-Jacques émettant des spermatozoïdes, la vésicule germinale est encore visible.

Les ovocytes de *P. maximus*, sont donc fécondables dès la rupture de la vésicule germinale puisque des larves ont pu être obtenues en écloserie à partir des lots d'ovocytes prélevés *in situ* par scarification de la gonade ou par ponction dans les gonoductes et les reins. Cependant les résultats apparaissent hautement variables. La variabilité interindividuelle considérable du taux d'éclosion habituellement constatée chez *P. maximus* (Le Pennec et al, 1990, sous presse) se retrouve ici pour les ovocytes émis. Une autre source de variation explique les résultats négatifs de certains des prélèvements effectués dans la gonade des coquilles en cours de ponte: la vidange de la glande génitale est très rapide et si le prélèvement est

tardif, il ne subsiste dans les acini que des ovocytes immatures qui n'étaient pas destinés à être émis. Enfin, dans les gonoductes et les reins les écarts particulièrement importants et les différences constatées avec les ovocytes émis peuvent s'expliquer par les caractéristiques particulières de l'atrésie ovocytaire chez *P. maximus*. Celle-ci est d'importance variable dans le temps, selon les individus, mais aussi "géographiquement" dans la gonade: il est fréquent d'observer sur les coupes histologiques des acini remplis d'ovocytes atrésiés côtoyant des acini dont les ovocytes ont une apparence normale (Lubet, 1987; Dorange, 1989; Paulet, 1990). Or, les prélèvements ont été effectués à un instant donné de l'émission sur une fraction des ovocytes émis. Il est fort possible que le mécanisme de ponte qui conduit à la vidange de la gonade, acinus par acinus, ou groupe d'acini par groupe acini (Masson, 1958) soit responsable de fluctuations très rapides de la viabilité des ovocytes qui transitent dans les voies génitales ou qui ont été émis dans les conditions expérimentales de ce travail. Habituellement, l'évaluation du taux d'éclosion représente des moyennes calculées sur des pontes totales.

Les manipulations montrent clairement que pour que des fécondations *in vitro* soient possibles chez *P. maximus*, il faut que les géniteurs aient été stimulés et que la ponte soit déjà initiée. Le mécanisme conduisant à la reprise de meïose chez *P. maximus* apparaît différent de celui de *C. gigas* dans la mesure où la levée du blocage de la meïose par le sperme lui même n'est pas possible. Il est clair que l'ovocyte au moment de la ponte reçoit un message, sans doute de type hormonal, qui déclenche la rupture de la vésicule germinale. Les mécanismes par lesquels l'ovocyte répond à ce message diffèrent sensiblement chez les deux espèces puisque la présence de sperme provoque cette rupture chez *C. gigas* mais pas chez *P. maximus*. La coquille Saint-Jacques et l'huître constituent donc deux modèles intéressants pour l'étude comparative des mécanismes de la maturation ovocytaire.

CALABRESE, A., DAVIS, H.C., 1970. Tolerances and requirement of embryos and larvae of bivalve molluscs. Helgol. Meerensunters, 20 : 553-564

COSTELLO, D.P., HENLEY. C., 1971. Methods for obtaining and handling marine eggs and embryos. Baker Mfg. Co. Printers, New Bedford, Massachusetts.

DORANGE, G., 1989. Les gamètes de *Pecten maximus* (Mollusca, Bivalvia). Thèse de doctorat d'Université - Université de Bretagne Occidentale. I. 140 p, II. 33 planches.

FUJITA, T., 1929. On the early development of the common Japanese Oyster . Jpn. Zool, 2 : 353 - 358.

GABE, M., 1968. Techniques histologiques. Masson et cie. Paris. 1133 p.

GIESE, A.C., KANATANI, H., 1987. Maturation and spawning. In : Reproduction of marine invertebrate, vol. IX. ed. A.C. GIESE, J.S. PEARSE, V.B. PEARSE. Blackwell scientific publication, California. 251 - 329.

GINSBURG, A.S., 1974. Fertilization of the eggs of bivalve mollusks with different insemination conditions. Ontogenesis 5 : 341 - 348.

GRUFFYDD, Ll.D., BEAUMONT, A.R., 1970. Determination of the optimum concentration of eggs and spermatozoa for the production of normal larvae in *Pecten maximus* (Mollusca, Lamellibranchia). Helgol. Meeresunters, 20 : 486 - 497.

LANGDON, C.J., 1983. New techniques and their application to studies of bivalve nutrition. Proceedings of the second international conference on aquaculture nutrition : biochemical and physiological approaches to shellfish nutrition. Louisiana state university, Louisiana. 305 - 320.

LE PENNEC, M., 1974. Morphogenèse de la coquille de *Pecten maximus* (L) élevée au laboratoire. Cah. Biol. Mar. Tome XV : 475 - 482.

LE PENNEC, M., 1981. Les méthodes expérimentales induisant la ponte chez les Mollusques Bivalves marins. Haliotis, 11 : 139 - 155.

LE PENNEC, M., GUEGUEN, F., COCHARD, J.C., PAULET, Y.M., DORANGE, G. 1990. Relations entre le contenu lipidique des ovocytes de *Pecten maximus* (Mollusque, Bivalve) et les performances des larves en élevage. Haliotis, 20, (sous presse).

LONGO, F.J., 1983. Meiotic maturation and fertilization. In : The Mollusca, vol. 3. ed. N.H. VERDONK, J.A.M. VAN DEN BIGGELAR, A.S.TOMPA. Academic Press, New York. 49 - 83 p.

LONGWELL, A.C., STILES, S.S., 1968. Fertilization and completion of meiosis in spawned eggs of the American oyster *Crassostrea virginica* GMELIN. Caryologica, 21 (1) : 65 - 75.

LUBET, P., BESNARD, J.Y., FAVERIS, R., ROBBINS, I., 1987. Physiologie de la reproduction de la coquille Saint-Jacques (*Pecten maximus* L). Oceanis, 13 (13) : 265 - 290.

LUCAS, A., 1984. Developpement contrôlé des bivalves marins. Haliotis, 14 : 143 - 158.

MASON, J., 1958. The breeding of the scallop, *Pecten maximus* (L) , in Manx Waters. J. Mar. Biol. Ass. U.K., 37 : 653 - 671.

PAULET, Y.M., 1990. Rôle de la reproduction dans le déterminisme du recrutement chez *Pecten maximus* (L) de la Baie de Saint-Brieuc. Thèse de doctorat d'Université. Université de Bretagne Occidentale. 314 p.

RAVEN, Chr. P., 1958. Morphogenesis: The analysis of molluscan development, Pergamon Press, London. 22 - 57.

SCHERRER, B. 1984. Biostatistique. Gaëtan Morin Ed., Canada. 388 -392.

SPURR, A.R., 1969. A low-viscosity epoxy-resin embedding for electron . microscopy. J. Ultrastruc. Res., 26 : 31 - 43.

STEEL R.G.D & J.H TORRIE. 1980. Principles and procedures of statistics. Mc. Graw- Hill Inc.

WADA, S.K., 1968. Mollusca: Amphineura, Gastropoda, Scaphopoda, Pelecypoda. In : Invertebrate Embryology. ed. M. KUME, K. DAN. NOLIT Pub. House, Belgrade, Yugoslavia.

Société Française de Malacologie
ASPECTS RÉCENTS DE LA BIOLOGIE DES MOLLUSQUES
Ifremer, Actes de Colloques, no. 13, 1992, p. 57-70

6

LES RELATIONS TROPHIQUES ANSE INTESTINALE-GONADE CHEZ *PECTEN MAXIMUS* (MOLLUSQUE BIVALVE)

LE PENNEC M., DORANGE G., BENINGER P., DONVAL A. et WIDOWATI I.

Laboratoire de Biologie Marine, Université de Bretagne Occidentale, Faculté des Sciences - 29287 BREST Cédex

RESUME : Des études histologiques, histochimiques et ultrastructurales ont été réalisées, chez *Pecten maximus*, sur la portion du tractus digestif qui traverse la gonade. Les résultats obtenus permettent d'envisager une fonction d'absorption et de digestion de métabolites par les cellules épithéliales de l'anse intestinale et un transfert de substances nutritives vers le tissu gonadique environnant. Divers mécanismes de translocation sont possibles, notamment par l'hémolymphe, mais aussi par l'intermédiaire de "cellules vacuolaires" du tissu conjonctif interstitiel gonadique.

Mots clés : métabolites, transfert, intestin, gonade, *Pecten maximus*

TROPHIC RELATIONSHIPS GONAD-INTESTINAL LOOP IN *PECTEN MAXIMUS*

ABSTRACT : *Histological, histochemical and ultrastructural sudies were performed on the region of the gonad traversed by the intestine in* Pecten maximus. *The results indicate a digestive and absorptive function of intestine epithelial cells and a transfer of metabolites to the surrounding gonad tissue. Several possible mechanisms of translocation are presented, including diffusion into the haemolymph and transfer via vacuolated cells of the gonad interstitiel connective tissue.*

Keywords : nutriments, transfert, intestine, gonad, *Pecten maximus*

INTRODUCTION

L'anatomie et la fonction du tractus digestif des Pectinidae sont identiques à celles des autres bivalves (Purchon, 1977 ; Beninger et Le Pennec, 1991). Cependant, il existe quelques caractéristiques propres à certaines espèces comme *Placopecten magellanicus* et *Pecten maximus* chez lesquelles une portion du tractus digestif décrit une large boucle dans la gonade. Connue sous le nom d'anse intestinale ("intestinal loop" des auteurs anglo-saxons), elle comprend une "partie descendante" faisant suite à l'estomac et une "partie ascendante" qui longe le rein avant d'atteindre le péricarde.

De nombreux travaux ont été consacrés à l'anatomie et à la physiologie du tractus digestif des Pectinidae ; par exemple ceux de Purchon (1957) concernent l'estomac ; Purchon (1957, 1977), Wojtowicz (1972) et Mathers (1976) la glande digestive ; Wojtowicz (1972), Mathers (1976), Purchon (1977) et Judd (1987) le stylet cristallin et Beninger *et al.* (1990a, b), les palpes labiaux. Cependant, peu d'études traitent des caractéristiques cytologiques de l'intestin, la plus complète étant vraisemblablement celle d'Usheva (1983) sur *Patinopecten yessoensis*.

Récemment, Le Pennec *et al.* (1991) ont émis l'hypothèse de liens physiologiques étroits chez *Pecten maximus* entre l'anse intestinale et le tissu gonadique environnant et envisagé le passage de métabolites vers la gonade. Les recherches que nous avons entreprises chez cette espèce ont pour objectif de mieux connaître la cytologie et la cytochimie de la paroi intestinale, celles des autres tissus de la gonade étant déjà connues (Dorange, 1989 ; Dorange et Le Pennec, 1989), afin de disposer d'éléments supplémentaires permettant d'étayer l'hypothèse des relations trophiques anse intestinale-gonade.

MATERIEL ET METHODES

Des fragments de gonade de coquille St-Jacques ont été prélevés à plusieurs niveaux et fixés au liquide de Bouin pour une étude histologique classique de la portion du tractus digestif qui la traverse. D'autres échantillons ont été rapidement congelés dans de l'isopentane refroidi par de l'azote liquide puis maintenus pendant une heure environ à -25°C dans l'enceinte d'un cryotome et débités en coupes de 10 µm d'épaisseur en vue d'une étude histochimique et histoenzymologique. Les coupes en paraffine

ont été colorées par un trichrome de Masson (Gabe, 1968). Les diverses réactions histochimiques et histoenzymologiques appliquées aux coupes à congélation figurent dans le tableau 1.

Dans le but d'examiner l'intestin en microscopie électronique, une injection de glutaraldéhyde à 2,5 % en tampon cacodylate de sodium 0,2 M (pH 7,3, 1 100 mosm) a été réalisée "*in situ*" pour une préfixation. Puis des échantillons ont été prélevés dans la partie distale "ascendante". La fixation s'est ensuite poursuivie pendant une heure. Après lavage en tampon cacodylate, les spécimens ont été postfixés une heure au tetroxyde d'osmium à 1 % dans le même tampon puis inclus en résine de Spurr (1969). Des coupes semi-fines et ultra-fines ont été confectionnées. Les coupes semi-fines ont été colorées au bleu de toluidine. Les coupes ultra-fines ont été contrastées selon la méthode de Reynolds (1963).

RESULTATS

1. Structure et ultrastructure de l'anse intestinale

L'observation des coupes en paraffine et des coupes semi-fines montre que la paroi intestinale plissée est limitée par un épithélium de type simple et prismatique reposant sur une assise conjonctivo-musculaire (pl. 1, 1). La hauteur des cellules épithéliales est variable : des cellules basses sont situées dans les cryptes ; les cellules sont plus hautes au niveau des villosités. Aux nombreux replis de la branche "descendante" succèdent progressivement dans la partie "ascendante" des plateaux de cellules hautes dont la surface s'accroît en même temps que leur nombre diminue.

L'épithélium est constitué de cellules à bordure en brosse et souvent ciliées qui présentent fréquemment, dans la partie distale de l'intestin, des extrusions cytoplasmiques apicales, de taille variable. Le cytoplasme est plus ou moins intensément coloré selon les cellules et souvent abondamment vacuolisé (pl. 1, 1). Parmi ces cellules, l'histochimie permet de détecter des mucocytes, positifs aux réactions A.P.S. et bleu Alcian (tabl. 1), plus ou moins fréquents selon les zones intestinales considérées. On peut aussi remarquer la présence de cellules disséminées présentant une réaction positive seulement au bleu Alcian.

Les cellules reposent, sur une basale irrégulière, plissée, qui les sépare d'une assise conjonctivo-musculaire épaisse d'où se détachent des fibres conjonctives parfois disposées en réseau (pl. 1, 1). Dans les

COMPOSE ETUDIE	TECHNIQUE - CONTROLE REALISE	RESULTATS
GLUCIDES	A.P.S. (Mc. Manus, 1946, d'après Lison, 1960 Contrôle par absence d'oxydation périodique	+ (certaines cellules) (volumineux globules +++ des cellules des plateaux : branche "ascendante")
	Bleu Alcian (Mowry, 1956, d'après Gabe, 1968)	+ (certaines cellules)
LIPIDES TOTAUX	Noir Soudan d'après Gabe (1968)	+
LIPASE	Gomori (1952) d'après Gabe (1968) Contrôle par dénaturation des enzymes à la chaleur	+
ESTERASES NON SPECIFIQUES	Burstone (1956) d'après Gabe (1968) Contrôle par omission du substrat	+
PHOSPATASE ALCALINE	Gomori (1952) d'après Gabe (1968) Contrôle par omission du substrat	+ -
PHOSPHATASE ACIDE	Grogg et Pearse (1952) d'après Gabe (1968) Contrôle par omission du substrat	+
N-ACETYL GLUCOSAMINIDASE	Moore (1976) Contrôle par omission du substrat	+ -
ß GLUCURONIDASE	Moore (1976) Contrôle par omission du substrat	-
LEUCINE AMINOPEPTIDASE	Burstone et Folk (1955) Contrôle par omission du substrat	+
AMYLASE	Shear et Pearse (1963)	+

Tableau 1 : Histochimie : composés étudiés, techniques et résultats.

lacunes hémolymphatiques intraconjonctives sous-jacentes à la muqueuse intestinale, et situées entre les acini, on observe de nombreux hémocytes coexistant avec des cellules vacuolaires de plus grandes dimensions (pl. 1, 1).

Au microscope électronique à transmission, la surface apicale des cellules épithéliales, de la zone distale de l'intestin, apparaît frangée de nombreuses microvillosités d'où émergent quelques cils. Les vésicules d'endocytose sont nombreuses. Le cytoplasme de la partie haute des cellules est fréquemment parsemé d'inclusions de type lysosomal, hétérogènes en densité, forme et taille et de longues mitochondries (pl. 1, 2). Les extrusions cytoplasmiques, parfois reliées par un mince pont cytoplasmique au pôle apical des cellules, renferment quelques organites (mitochondries, par exemple). Des corps résiduels sont parfois visibles dans le cytoplasme apical proche de ces extrusions. Des sphérules de cytoplasme, apparemment libres dans la lumière, avoisinent ces excroissances, ce qui suggère des processus de fragmentation.

Certaines cellules sont caractérisées par la présence d'innombrables granules osmiophiles (pl. 1, 3) dont il conviendra d'identifier précisément la nature chimique. Elles possèdent un réticulum endoplasmique très développé dont les citernes souvent dilatées (pl. 1, 3) envahissent l'ensemble du cytoplasme. L'appareil de Golgi y est aussi bien représenté.

Le noyau de toutes les cellules épithéliales, est allongé et situé en position intermédiaire ou basale. Des complexes jonctionnels (desmosomes, puis longues jonctions septées) relient étroitement dans leur partie apicale les membranes plasmiques interdigitées des cellules. En revanche, l'espace intercellulaire basal est souvent très dilaté (pl. 1, 3). Les cellules épithéliales reposent sur une basale fenêtrée, irrégulière, au moyen de projections cytoplasmiques à allure de pseudopodes (pl. 1, 4). Des hémocytes de type macrophagique, dont le cytoplasme est chargé en inclusions denses de type lysosomal, s'insinuent parfois entre les cellules épithéliales. De plus, il est assez fréquent d'observer des cellules d'aspect nécrosé intercalées entre les autres cellules.

Sous l'assise épithéliale prismatique abondent dans certaines zones (pl. 1, 2) de petites cellules de type indifférencié au rapport nucléocytoplasmique élevé.

Sous la lame basale et la couche conjonctivo-musculaire, les hémocytes des lacunes hémolymphatiques présentent souvent de longs prolongements typiques de macrophages (pl. 1, 4). Leur cytoplasme est

LEGENDE DE LA PLANCHE 1

Fig. 1 - Coupe semi-fine de la paroi intestinale (départ de la branche "ascendante") et du tissu gonadique environnant. Les cellules épithéliales (ce) plus ou moins hautes de la paroi intestinale reposent sur une lame basale (lb) irrégulière. De l'assise conjonctivo-musculaire sous-jacente (cm) se détachent des fibres conjonctives (fc) rejoignant les acini (a). Des hémocytes (h) et des cellules vacuolaires (↓) sont présentes dans le tissu conjonctif interstitiel (tci). l : lumière intestinale. Echelle : 100 µm.

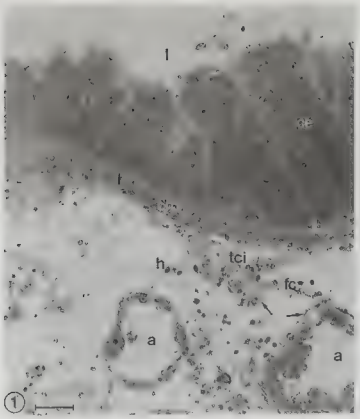
Fig. 2 - M.E.T. Les cellules épithéliales (ce) ont un pôle apical hérissé de microvillosités (mv) d'où émergent des cils (c). Les extrusions cytoplasmiques (ec) sont nombreuses. Le cytoplasme possède des inclusions denses (gd) et de nombreuses mitochondries (m). A la base des cellules on observe de nombreuses cellules indifférenciées (ci). Echelle : 6 µm.

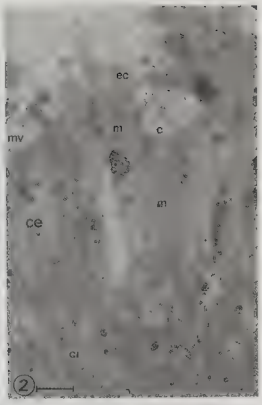
Fig. 3 - M.E.T. Dans certaines cellules épithéliales le reticulum endoplasmique (↓) est abondant et le cytoplasme contient à l'apex de nombreux grains denses (↓↓). Les diverses cellules sont en contact avec une basale (lb) fenêtrée. L'espace intercellulaire (ei) est plus ou moins dilaté. Echelle : 6 µm.

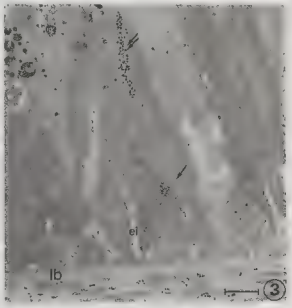
Fig. 4 - M.E.T. Sous l'assise conjonctivo-musculaire (cm), dans les sinus hémolymphatiques, de nombreux hémocytes (h) à fonction macrophagique coexistent avec de grosses cellules vacuolaires (cv). Echelle : 6 µm.

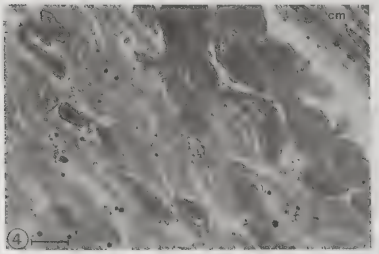
Fig. 5 - M.E.T. Les grosses cellules vacuolaires (cv) sont souvent à proximité des acini gonadiques (a). Les prolongements cytoplasmiques d'un hémocyte de type macrophagique contournent partiellement une cellule vacuolaire (↓). ov : ovocytes en vitellogenèse. Echelle : 4 µm.

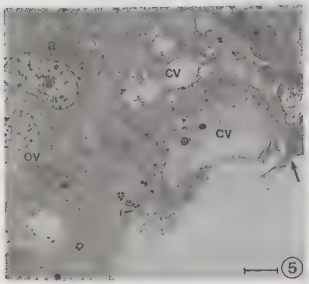
Fig. 6 - M.E.T. Détail de la membrane plasmique d'une cellule vacuolaire montrant les nombreuses invaginations et la densification de la membrane au départ des invaginations (↓). Sur les vésicules d'endocytose (v) le revêtement externe de type clathrine est visible. Echelle : 0,4 µm.


l
l
h
tci
fc
a
a


ec
mv
m
c
ce
m
ci


ei
lb


cm


a
cv
cv
ov

v

envahi de nombreuses vésicules de reticulum endoplasmique lisse et d'inclusions denses ou de vacuoles plus ou moins volumineuses. Ces hémocytes sont souvent proches de volumineuses cellules rondes ou ovales de 10 à 15 µm de diamètre (ou "cellules vacuolaires", Dorange, 1989). Leur noyau est excentré et leur cytoplasme et abondamment chargé de vacuoles et de globules plus ou moins denses (pl. 1, 5). La membrane plasmique de ces cellules vacuolaires présente de nombreuses invaginations dont les départs sont soulignés par une densification de la membrane. L'extrémité des digitations et les vésicules d'endocytoses portent un revêtement externe de type clathrine (pl. 1, 6).

Les cellules vacuolaires sont fréquemment observées dans le tissu conjonctif délimitant les acini gonadiques (pl. 1, 5) et dans les lacunes hémolymphatiques où elles adhèrent largement à la basale. Parois, des hémocytes de type macrophagique entourent partiellement les cellules vacuolaires de leur prolongements cytoplasmiques. Il semble cependant qu'ils en soient séparés par des fibres de collagène.

2. Histochimie

Outre les composés glucidiques neutres et acides, révélés dans certaines cellules par la positivité aux réactions A.P.S. et bleu Alcian qui permet d'identifier des mucocytes, divers composés ont été détectés dans des autres cellules épithéliales (tabl. 1). Tel est le cas de lipides colorés au noir Soudan, abondants dans les cellules des villosités. En ce qui concerne les réactions enzymatiques, les réponses se sont avérées positives pour toutes les enzymes recherchées (tabl. 1) sauf pour la ß glucuronidase. Les enzymes détectées sont intracellulaires à l'exception de l'amylase qui semble extracellulaire. Les activités estérasique et phosphatasique acide se sont révélées les plus intenses. La réaction est particulièrement marquée dans la zone apicale des cellules hautes.

Dans les lacunes hémolymphatiques sous-jacentes à la paroi intestinale, des cellules, qui correspondent selon toute vraisemblance aux hémocytes observés en microscopie électronique, réagissent aussi aux réactions de mise en évidence de la phosphatase acide et des estérases.

DISCUSSION

Plusieurs auteurs dont Zacks (1955), Reid (1966) Payne *et al.* (1972), Purchon (1971), Mathers (1973), Teo et Salapathy (1990), se basant sur des analyses enzymologiques ou histo-enzymologiques notent qu'il existe une digestion extra et/ou intra-cellulaire dans l'intestin des Bivalves. Prieur (1981) souligne, que chez les Bivalves, les bactéries présentes dans l'intestin, pourraient jouer un rôle actif dans les phénomènes de digestion en libérant des enzymes extracellulaires dont des protéases. Plus récemment, Boucaud-Camou *et al.* (1985) suggèrent que chez l'Ostreidae *Crassostrea gigas*, l'absorption et la digestion intracellulaires de substances directement assimilables, prédigérées dans les tubules digestifs et l'estomac s'achèvent dans l'intestin, surtout dans sa partie proximale.

Chez *Pecten maximus*, les caractéristiques ultrastructurales et histochimiques de l'épithélium intestinal permettent également d'envisager qu'il joue un rôle dans les processus généraux d'absorption et de digestion de métabolites.

L'existence de replis de la muqueuse, de microvillosités à l'apex des cellules épithéliales, de phénomènes d'endocytose et/ou d'exocytose traduits par la présence de nombreuses vacuoles proches de la surface cellulaire, la détection de phosphatase alcaline, enzyme associée à la membrane plasmique et qui serait impliquée dans les processus actifs de transferts membranaires (Posen, 1967), permettent d'entrevoir une fonction d'absorption de la part de cet épithélium. En outre, les nombreuses inclusions de type lysosomal et de corps résiduels dans de nombreuses cellules, d'extrusions de matériel cytoplasmique et de sphérules apparemment libres dans la lumière, semblent être des caractéristiques de cellules digestives (Baghdiguian, 1989 ; Boucaud-Camou, 1990).

L'épithélium de l'anse intestinale est en outre le siège d'activités enzymatiques variées. Plusieurs enzymes y ont été détectées mais l'analyse est encore incomplète. En dehors de l'amylase qui apparait extracellulaire et qui participe vraisemblablement à des phénomènes de digestion intraluminale, le site d'action des enzymes est majoritairement intracellulaire. Ainsi l'épithélium intestinal possède l'équipement en hydrolases lysosomales nécessaire à une digestion intracellulaire de composés glucidiques, protéiques et lipidiques.

L'activité digestive de l'épithélium intestinal correspond vraisemblablement à deux fonctions :

- la maintenance de l'épithélium lui même qui semble exercer une activité intense et subir un renouvellement important comme en témoigne la présence de nombreuses cellules de type indifférencié sous l'assise cellulaire prismatique et de cellules apparemment dégénérées en voie d'expulsion dans la lumière ;

- la nutrition des tissus sous-jacents. Divers éléments structuraux et histochimiques plaident en effet pour une possibilité de transfert de nutriments. Il s'agit notamment de l'indentation et de la fenestration de la lame basale, de la dilatation de l'espace intercellulaire basal, également signalé pour l'épithélium de la glande digestive chez *Ruditapes decussatus* (Baghdiguian, 1989), de la présence de cellules de transit de type macrophagique entre les cellules épithéliales, et enfin de la proximité des sinus hémolymphatiques où abondent des macrophages.

Les nombreux hémocytes des sinus hémolymphatiques renferment des hydrolases qui digèrent les éléments phagocytés (Cheng, 1975 ; Moore et Eble, 1977).

Les hémocytes sont fréquemment associés à de volumineuses cellules vacuolaires. Décrites pour la première fois par Dorange (1989) chez *P. maximus*, elles s'apparentent, selon cet auteur, sur le plan structural aux "Brown cells" mises en évidence chez des Ostreidae (Ruddell et Wellings, 1971) et aux globulocytes de *Patinopecten yessoensis* (Motavkine et Varaksine, 1983). La fonction des cellules vacuolaires reste à ce jour hypothétique. Une fonction de stockage et d'échanges de métabolites (Dorange, 1989 ; Le Pennec *et al.*, 1991) est vraisemblable. Divers éléments ultrastructuraux (membrane plasmique présentant d'innombrables invaginations, vésicules d'endocytose revêtues de clathrine) laissent en effet penser que bien qu'étant peu ou pas mobiles, ces cellules peuvent néanmoins jouer un rôle trophique. Pour Motavkine et Varaksine (1983), les globulocytes de *Patinopecten yessoensis* sont des cellules fonctionnelles, mobiles, en provenance de l'intestin, qui assurent un rôle trophique dans la gonade. Pour Le Pennec *et al.* (1991), les cellules vacuolaires seraient pas ou peu mobiles, mais ceci pourrait être compensé par un couplage avec les hémocytes. Leur transit dans le tissu conjonctif pourrait ainsi être assuré vers les acini gonadiques où un transfert de métabolites vers les cellules germinales serait possible.

Outre les fonctions d'absorption et de digestion, l'épithélium exerce aussi une activité sécrétrice comme en témoigne la présence de mucocytes. Certaines observations incitent également à penser que d'autres

substances que du mucus pourraient être élaborées au niveau de l'anse intestinale. Certaines cellules présentent en effet un reticulum endoplasmique particulièrement abondant, un appareil de Golgi bien développé traduisant donc une activité de synthèse importante et des inclusions denses dont la nature chimique reste à identifier. Des études complémentaires s'avèrent nécessaires pour préciser ce point.

Ainsi, chez *Pecten maximus*, divers arguments ultrastructuraux et histochimiques plaident en faveur d'une absorption et d'une digestion de métabolites dans l'anse intestinale et d'un transfert de nutriments vers les acini gonadiques. La nutrition de la gonade se fait vraisemblablement par diverses voies dont l'hémolymphe, par simple diffusion, mais aussi par l'intermédiaire des hémocytes et les cellules vacuolaires. L'utilisation de traceurs radioactifs devrait permettre la mise en évidence de ces voies trophiques, à partir de l'intestin, et de préciser la part réellement assurée par les cellules vacuolaires.

BENINGER P.G. & LE PENNEC M., 1991. Anatomy and function. In : **Shumway S.E. Ed., Scallops : Biology, Ecology and Aquaculture. Elsevier. Science Publishers B.V., Amsterdam, The Netherlands.**

BENINGER P.G., AUFFRET M. & LE PENNEC M., 1990a. The peribuccal organs of *Placopecten magellanicus* and *Chlamys varia* (Mollusca : Bivalvia) : structure, ultrastructure and implications for nutrition. I : The labial palps. **Mar. Biol.**, 106 : 215-223.

BENINGER P.G., LE PENNEC M. & AUFFRET M., 1990b. The peribuccal organs of *Placopecten magellanicus* and *Chlamys varia* (Mollusca : Bivalvia). II : The lips. **Mar Biol.**, 106 : 225-233.

BAGHDIGUIAN S., 1989. Influence de la température et des conditions trophiques sur la physiologie de *Ruditapes decussatus* L. (Mollusque Lamellibranche). Proposition d'un nouveau modèle conceptuel de croissance. **Th. Univ. Aix-Marseille III** : 283 p.

BOUCAUD-CAMOU E., LEBESNERAIS C., LUBET P & LIHRMANN I., 1985. Dynamique et enzymologie de la digestion chez l'huître *Crassostrea gigas* (Thunberg). **Actes Coll. IFREMER**, n° 1 : 75-96.

BURSTONE M.S. & FOLK J.E., 1955. Histochemical demonstration of amino-peptidase. **J. Histochem. Cytochem.**, 4 : 217-226.

CHENG T.C., 1975. Functional morphology and biochemistry of molluscan phagocytes. **Ann. N.Y. Acad. Sci.**, 266 : 343-379.

DORANGE G., 1989. Les gamètes de *Pecten maximus* L. (Mollusca, Bivalvia). **Th. Univ. Brest** : 1-140, 33 pl.

DORANGE G. & LE PENNEC M., 1989. Ultrastructural study of oogenesis and oocytic degeneration in *Pecten maximus* from the bay of St Brieuc. **Mar. Biol.**, 103 : 339-348.

GABE M., 1968. Techniques histologiques. **Masson & Cie ed.**, Paris : 1 133 p.

JUDD W., 1987. Crystalline style proteins from bivalve molluscs. **Comp. Biochem. Physiol.** 88B : 333-339.

LAWRENCE J.M., 1982. Digestion, pp. 283-316, In : **Echinoderm nutrition. Jangoux M. and Lawrence J.M., Ed., . Rotterdam, The Netherlands** : 1.

LISON L., 1960. Histochimie et cytochimie animales. Principes et méthodes. **Gauthier-Villard ed.**, Paris, 2 : 398-842.

LE PENNEC M., BENINGER P.G., DORANGE G. & PAULET Y.M., 1991. Trophic sources and pathways to the developing gametes of *Pecten maximus* (Bivalvia : Pectinidae). **J. mar. biol. Ass. U.K.** 71 : 451-463.

MATHERS N.F., 1973. A comparative histochemical survey of enzymes associated with the processes of digestion in *Ostrea edulis* and *Crassostrea angulata* (Mollusca : Bivalvia). **J. Zool. Lond.**, 169 : 169-179.

MATHERS N.F., 1976. The effects of tidal currents on the rhythm of feeding and digestion in *Pecten maximus*. **J. Exp. Mar. Biol. Ecol.**, 24 : 271-283.

MOORE C.A., 1976. Cytochemical demonstration of latency of lysosomal hydrolases in digestive cells of the common mussel, *Mytilus edulis*, and changes induced by thermal stress. **Cell Tissue Res.**, 175 : 279-287.

MOORE C.A. & EBLE D.F., 1977. Cytochemical aspects of *Mercenaria mercenaria* hemocytes. **Biol. Bull. Mar. Biol. Lab., Woods Hole**, 125 : 105-119.

MOTAVKINE P.A. & VARAKSINE A.A., 1989. La reproduction chez les mollusques bivalves. Rôle du système nerveux et régulation. **E. Scien. et Tech. IFREMER**, 10 : 1-250.

PAYNE D.W., THORPE N.A. & DONALDSON E., 1972. Cellulolytic activity and a study of the bacterial population in the digestive tract of *Scrobicularia plana* (Da Costa). **Proc. Malac. Soc. London**, 40 : 147-160.

POSEN S., 1967. Alkaline phosphatase. **Ann. Intern. Med.**, 67 : 183-203.

PRIEUR D., 1981. Les relations entre Mollusques Bivalves et bactéries hétérotrophes en milieu marin. Etude analytique et expérimentale. **Th. Doct. Etat, Brest** : 1-266.

PURCHON R.D., 1957. The stomach in the Filibranchia and Pseudolamellibranchia. **Proc. Zool. Soc. Lond.**, 129 : 27-60.

PURCHON R.D., 1971. Digestion in filter feeding bivalves - a new concept. **Proc. Malac. Soc. London**, 39 : 253-262.

PURCHON R.D., 1977. The biology of Mollusca. 2nd edition. **Pergamon, Oxford** : 1.

REID K.G., 1966. Digestion tract enzymes in the bivalves *Lima hians* Gmelin and *Mya arenaria*. **L. Comp. Bioc. and Phys.**, 17 : 417-433.

REYNOLDS E.S., 1963. The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. **J. Cell. Biol.**, 17 : 208-212.

RUDDELL C.L. & WILLINGS S.R., 1971. The ultrastructure of the Oyster Brown cell, a cell with a fenestrated plasma membrane. **Z. Zellforsch.** 120 : 17-28.

SHEAR M. & PEARSE A.G.E., 1963. A starch substrate film method for the histochemical localization of amylase. **Exptl. Cell. Res.**, 32 : 174-177.

SPURR A.R., 1969. A low visosity expoxy resin embedding for electron microscopy. **J. Ultrastruct. Res.**, 26 : 31-43.

TEO L.H. & SALAPATHY U., 1990. Preliminary report on the digestive enzymes present in the digestive gland of *Perna viridis*. **Mar. Biol.** 106 : 403-407.

USHEVA L.N., 1983. Cell histomorphology and proliferation of the posterior intestine epithelium in the Yezo scallop *Patinopecten yessoensis*. **Biol. Morya**, 3 : 17-24.

WOJTOWICZ M.B., 1972. Carbohydrases of the digestive gland and the crystalline style of the Atlantic Deep-Sea Scallop *Placopecten magellanicus* Gmelin. **Comp. Biochem. Physiol.** 43A : 131-141.

ZACKS S.I., 1955. The cytochemistry of the amaebocytes and intestinal epithelium of *Venus mercenaria* (Lamellibranchiata), with remarks on a pigment resembling ceriod. **Q.J. Micros. Sc.**, 96 : 57-71.

Société Française de Malacologie
ASPECTS RÉCENTS DE LA BIOLOGIE DES MOLLUSQUES
Ifremer, Actes de Colloques, no. 13, 1992, p. 71-82

7

MODELISATION DE LA CROISSANCE DE *RUDITAPES PHILIPPINARUM* DANS UN SYSTEME EXPERIMENTAL

BENSCH A., BACHER C., BAUD J.P. et MARTIN J.L.

IFREMER, BP 133, 17390 LA TREMBLADE

RESUME : Un modèle de bilan énergétique a été appliqué à des suivis expérimentaux de la palourde japonaise *Ruditapes philippinarum* prégrossie dans des unités expérimentales alimentées par une production primaire de *Skeletonema costatum*. Les fonctions de filtration et de respiration dépendent de la température et du poids sec individuel. L'effort de ponte a été représenté par une loi allométrique estimée sur les observations expérimentales. Le modèle simule des croissances individuelles en poids sec et en poids de coquille convertis en énergie pendant les six mois du suivi expérimental. Les prédictions du modèle sont correctes jusqu'après la ponte mais surestiment la croissance ensuite. L'hypothèse d'une seconde ponte, non décelable par le plan d'échantillonnage adopté, est avancée. Ce modèle est apparu suffisamment robuste pour justifier la prise en compte de la variabilité spatiale de la distribution de nourriture par un modèle de transport dans une étude ultérieure.

Mots clés : modèle énergétique, *Ruditapes philippinarum*, analyse de sensibilité, ponte, élevage intensif

MODELING THE GROWTH OF *RUDITAPES PHILIPPINARUM* IN AN EXPERIMENTAL SYSTEM

ABSTRACT : *The growth of* Ruditapes philippinarum *was modeled with an energetic budget equation. Clams were fed with* Skeletonema costatum *in experimental units during 6 months. The filtration and respiration terms of the budget were depending on the temperature and the dry weight. The spawning effort was represented by an allometric relation derived from the experimental data. The model simulated the individual growth of the dry weight and of the shell converted into energy during the 6 months of the experiment. The results fitted well with the observations until the loss of energy due to the spawning. After that period the model overestimated the growth which was explained by another spawning loss not taken into account in the model and not noticeable with the sampling design. The model appeared precise enough to be coupled to a transport model explaining the spatial variability of food and growth in a further study.*

Keys words : energetic modeling, *Ruditapes philippinarum*, sensitivity analysis, spawning, intensive rearing

INTRODUCTION

Depuis 1988, le laboratoire IFREMER de Bouin (Vendée) étudie les possibilités d'élevage intensif de la palourde Ruditapes philippinarum en vue d'un transfert technologique vers le milieu professionnel. L'objectif est de mettre au point une méthode d'élevage permettant d'obtenir en huit mois, à partir de juvéniles d'une taille d'environ 25 mm des palourdes de taille commerciale (supérieure à 35 mm) avec un rendement plus important que celui possible en milieu naturel (50 individus / m^2). Ces contraintes impliquent un apport nutritif supérieur à celui présent dans l'eau de mer naturelle (culture phytoplanctonique).

Les expériences de 1988 réalisées en circuit ouvert ont permis d'évaluer la densité de palourdes, la ration alimentaire et la vitesse de l'eau d'élevage représentant le meilleur compromis entre rendement biologique et rentabilité économique. Sur ces bases, un système expérimental en circuit semi-fermé a été mis en place en 1989. Les résultats montrent une forte hétérogénéité de croissance des palourdes, liée à des problèmes de distribution de nourriture (Sévérin, 1990). En effet, l'action conjuguée du transport de particules alimentaires et de leur consommation par les bivalves peut créer un appauvrissement de la colonne d'eau en éléments nutritifs.

Ce phénomène de déplétion du milieu a été mis en évidence par Doering et Oviat (1986a) dans un mésocosme. De même, Wildish et Kristmanson (1984) montrent comment une population de moules peut épuiser la réserve de nourriture du milieu sous certaines conditions hydrodynamiques. Ils utilisent pour cela un modèle mathématique intégrant la consommation de nourriture par les mollusques et le transport particulaire. Ce type de modèle couplant un compartiment biologique et un modèle de transport a été appliqué à l'échelle d'écosystèmes naturels, notamment par Verhagen (1982), Smaal et al. (1986) ou Bacher (1989).

Afin de mieux comprendre le fonctionnement du système expérimental en circuit semi-fermé et d'interpréter la variabilité de croissance observée, on propose d'élaborer un modèle mathématique simulant les transferts d'énergie entre le milieu et les palourdes et basé sur les résultats de l'étude sur l'écophysiologie de la palourde menée par Goulletquer et al. (1989).

MATERIEL ET METHODE

1) Système expérimental

Le système expérimental est constitué d'une claire divisée en huit bassins de 32 m^2. La hauteur d'eau est limitée à 45 cm (Sévérin, 1990). L'espèce phytoplanctonique utilisée est la diatomée Skeletonema costatum. La concentration de phytoplancton distribuée à l'entrée des bacs et la vitesse de transit de l'eau dans les bassins sont les deux facteurs contrôlés. Les niveaux de ces deux facteurs ont été choisis de manière à obtenir une quantité de nourriture distribuée par individu et par jour de l'ordre de 10^8 à 5.10^8 cellules (Baud et al., 1990). Les deux niveaux de vitesse V1 = 0,11 cm/sec et V2 = 0,14 cm/sec, quoique apparemment proches, sont très différents quant au coût de leur mise en oeuvre à une échelle de bacs d'élevage professionnels. Les deux niveaux de concentration C1 et C2 choisis correspondent respectivement à des quantités de 10^8 et 5.10^8 cellules/palourde/24h (soit 2 à 10.10^5 Joules/palourde/jour).

La température et la concentration phytoplanctonique ont été suivies entre les mois d'avril et de novembre 1989. La température a été mesurée de façon journalière grâce à un thermomètre mini-maxi. Le phytoplancton constitue la partie nutritionnelle prépondérante du milieu d'élevage. La chlorophylle a représente un bon indice de quantification de la biomasse

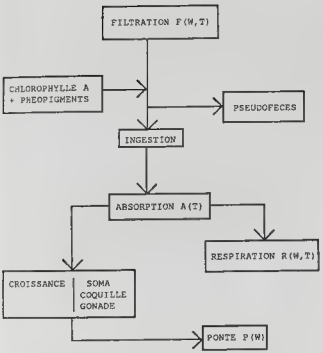


Figure 1. Modélisation des différentes fonctions intervenant dans le bilan énergétique individuel d'un mollusque filtreur. Le bilan de croissance résulte de la différence entre le terme d'absorption et le terme de respiration et dépend de deux variables environnementales: nourriture (chlorophylle a + phéopigments) et température T, et du poids sec W.

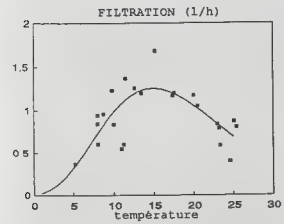


Figure 2. Relation entre la filtration (l/h) et la température pour un animal standard de 1g observée et modélisée par Goulletquer et al. (1989).

phytoplanctonique. Cependant, lors de son extraction, elle est très instable et se dégrade en partie en phéopigments (Suzuki et Fujita, 1986). La concentration phytoplanctonique a donc été mesurée par l'indice chlorophylle a et phéopigments. Les prélèvements ont été effectués de façon bihebdomadaire à mi-hauteur d'eau au milieu des bassins B3 et B8 correspondant aux conditions d'élevage les plus et les moins favorables (vitesse V2, resp. V1, concentration C2, resp. C1).

La densité du semis de palourdes est de 300 individus par m^2. Le suivi de croissance s'est fait de façon bimensuelle de Juin à Octobre 1989 au milieu des bassins afin de déterminer les périodes de ponte. En Avril et Mai, seul un prélèvement a été effectué. Dans les 2 bassins et à chaque prélèvement, 10 individus ont été mesurés et pesés. Dans chaque lot et sur 4 palourdes tirées au hasard, le poids de coquille, le poids sec sans cendre et la composition de la chair (protéines, lipides et glucides) ont été mesurés.

2) Modèle biologique

a) principe

Le modèle est basé sur une équation de bilan énergétique individuel. La croissance par unité de temps (dW/dt) convertie en équivalent énergétique est définie comme la différence entre les gains et les pertes d'énergie de l'individu pendant cet intervalle de temps. Majkowski et Waiwood (1981) estiment ainsi la biomasse consommée par une population de poissons. Ce type de modèle est utilisé pour l'étude du fonctionnement et des capacités trophiques d'un milieu d'élevage (Bayne, 1976 ; Verhagen, 1982 ; Bacher, 1989). On s'intéresse alors à l'estimation de la quantité de nourriture consommée et l'évolution de croissance des individus (fig. 1).

Le modèle s'écrit:

(1) $dW/dt = Abs - Resp - Excr$

, avec:

Abs : part d'énergie ingérée non rejetée sous forme de fèces (énergie traversant la paroi du tube digestif vers le milieu intérieur),

Resp : perte d'énergie due à la respiration, Excr : énergie perdue par excrétion,

où l'absorption, la respiration et l'excrétion sont des fonctions de facteurs environnementaux et de l'état physiologique de l'individu caractérisé par des paramètres comme la taille ou le poids.

b)gain d'énergie

De nombreuses études sur les bivalves filtreurs montrent que la filtration est une fonction puissance du poids sec (Mohlenberg et Riisgard, 1979 ; Bayne et Newell, 1983). Elle est aussi très influencée par la température. Laing et al. (1987) observent une baisse de croissance chez la palourde juvénile pour des températures supérieures à 25°C liée à une diminution de l'activité de filtration. Ces deux variables sont les 2 facteurs expliquant le mieux les fluctuations du taux de filtration (Doering et al., 1986b). Le modèle que nous avons utilisé est issu des travaux de Goulletquer et al.(1989) effectués sur des palourdes élevées en milieu naturel. La filtration est une fonction allométrique du poids sec sans cendre W avec un optimum pour des températures de 15 à 20°C (Fig. 2):

$$\text{Filtration} = W^{Allof} \cdot pf1 \cdot (T - pf2)^{pf3} \cdot \exp(-pf4.(T-pf2)) \quad ,$$

où T désigne la température (Tableau 1).

La quantité de matière ingérée est le produit de la concentration de nourriture multipliée par le volume d'eau filtrée jusqu'à un certain seuil au-delà duquel il y a rejet de nourriture (pseudofèces). D'après Sauriau (1990), l'émission de pseudofèces chez la palourde nourrie par Skeletonema costatum intervient à des concentrations de 200 à 400 cellules/ml, seuil qui n'est atteint à aucun moment dans les différents bacs d'élevage de cette expérience.

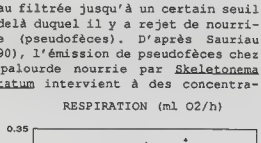


Figure 3. Relation entre la respiration (ml O2/h) et la température pour un animal standard de 1g observée et modélisée par Goulletquer et al. (1989).

Paramètres	Valeur	Nature
Allof	0,321	Exposant allométique de la filtration
Pf1	0,000112	Coefficients de la loi decrivant
Pf2	-2,564	la filtration (l/h) d'un
Pf3	5,008	individu standard de 1 gr
Pf4	0,286	de poids sec en fonction de la température
Allor	0,507	Exposant allométrique de la respiration
Pr1	0,0001065	Coefficients de la loi décrivant la
Pr2	-8,099	respiration d'un individu (ml O_2/h)
Pr3	3,274	standard de 1 gr de poids sec en
Pr4	0,11435	fonction de la température
Pabs	0,635	Coefficient d'absorption
Pratio	0,08	Pourcentage d'énergie de croissance affecté à la coquille
Pt1	-0,19	Coefficients allométriques
Pt2	-1,90	de la ponte
Dpc1	221 Jour	date de ponte
Cvenerch	19,2 J/mg	Coefficient de conversion énergétique de la chair
Cvenercoq	173,72 J/g	Coefficient de conversion énergétique de la coquille
Cvchla	2859 J/µg	Coefficient de conversion énergétique de la chlorophylle
CvenerO_2	20,08 J/ml	Coefficient de conversion énergétique de l'oxygène

Tableau 1. Paramètres du modèle de croissance.

L'efficacité d'absorption varie en fonction du régime alimentaire. La digestibilité est plus forte en présence d'une culture algale qu'en milieu naturel (Bayne et Newell, 1983). Cette différence peut être attribuée à une plus forte proportion de seston minéral en milieu naturel et à une digestibilité variable d'un type de nutriment à l'autre. En accord avec cette hypothèse, on trouve dans la littérature des modèles décrivant l'efficacité d'absorption comme une fonction du pourcentage de matière organique contenue dans le seston, chez la moule Mytilus edulis (Berry et Schleyer, 1983) ou chez la palourde (Goulletquer et al., 1989). Ce dernier modèle donne pour la valeur moyenne de 45 % de seston organique

rencontrée dans les données expérimentales un rendement d'absorption de 70 %. En raison de la spécificité de ce coefficient par rapport au type d'alimentation, ce paramètre a été calibré à partir des données. Le terme d'absorption de l'équation (1) s'écrit donc comme le produit du taux de filtration, de la teneur énergétique du milieu et du coefficient d'absorption.

L'alimentation est ici contrôlée et issue d'une culture phytoplanctonique monospécifique. En conséquence, seule la source phytoplanctonique a été prise en compte dans l'évaluation de cette teneur énergétique, estimée par la somme (chlorophylle a + phéopigments) convertie en équivalent carbone par la relation (Strickland, 1960) :

1 carbone organique = 60 chlorophylle a ,

puis en énergie en appliquant le coefficient de 11.4 calories/mg de carbone (Platt et Irwin, 1973). La source de nourriture sous forme dissoute, considérée comme négligeable, n'est pas prise en compte.

c) pertes d'énergie

Les pertes énergétiques liées à l'excrétion dissoute se font principalement sous forme d'acides aminés. Le dosage des acides aminés en milieu expérimental permet de mesurer le bilan entre l'excrétion et l'absorption dissoute. Un suivi saisonnier chez la palourde (Goulletquer et al., 1989) montre qu'en moyenne, ce bilan est nul et n'a donc pas été pris en compte dans cette étude.

Comme la filtration, la respiration chez les bivalves est une fonction allométrique de l'individu et dépend de la température. Mesurée de façon indirecte par le volume d'oxygène consommé, son expression énergétique nécessite l'utilisation d'un coefficient de conversion soit : 20.08 J/ml O_2 (Bayne et Newell, 1983). Le modèle retenu (Goulletquer et al., 1989) est fonction de la température T et du poids sec sans cendre W avec un maximum pour des températures de l'ordre de 20 °C (Fig. 3) :

$$\text{Respiration} = W^{Allor} \cdot prl \cdot (T - pr2)^{pr3} \cdot \exp(-pr4 \cdot (T - pr2))$$

d) croissance

L'énergie disponible pour la croissance est partagée entre les deux compartiments chair et coquille selon un rapport fixe au cours du temps. La valeur de ce rapport (paramètre Pratio), difficile à déterminer a été calibrée par rapport aux données. Les coefficients de conversion énergétique permettant de transformer l'énergie de croissance en gain de poids sont de 173.72 J/ g pour la coquille (Goulletquer et Wolowicz, 1989) et de 19.2 J/mg pour la chair sèche sans cendre (Goulletquer et al., 1989).

e) ponte

La ponte se caractérise par un amaigrissement dû au largage des gamètes. La quantité d'énergie perdue (effort de reproduction) ainsi que la date de ponte varient d'une espèce à l'autre et entre individus de la même espèce. Bayne (1976) pour la moule, Bacher (1989) pour l'huître utilisent une fonction allométrique du poids de chair sèche pour quantifier l'effort de ponte. Mann (1979) montre l'importance de la température sur le déclenchement de la gamétogénèse (température seuil) et sur son déroulement (quantité de chaleur reçue). La mesure directe de l'effort de reproduction est difficilement réalisable. Elle nécessite le déclenchement artificiel de la ponte.

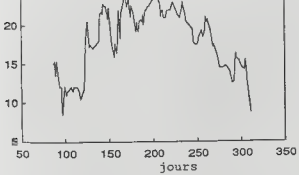


Figure 4. Suivi annuel de température de l'eau d'élevage (date 100: 10 avril 1989).

Cependant, une mesure indirecte reste possible par comparaison de la relation poids sec:longueur de coquille chez les palourdes matures et les palourdes ayant pondu. Yap (1977) met en évidence une différence significative de cette relation entre les deux catégories d'individus. Le poids sec (W) s'exprime comme une fonction allométrique de

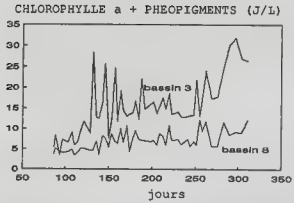


Figure 5. Suivi de la concentration en chlorophylle a + phéopigments convertie en énergie au milieu des bassins B3 et B8. Les séries annuelles sont reconstituées par interpolation linéaire entre les observations bi-hebdomadaires.

la longueur de coquille (X) :

$W = a X^b$ avant la ponte

$W' = a' X^{b'}$ après la ponte

Si l'on suppose que la différence de poids (W-W') entre individus de même longueur est entièrement due à la perte des gamètes, l'estimation des paramètres a,b,a' et b' permet de modéliser la perte de poids due à la ponte comme une fonction allométrique du poids de chair sèche avant ponte :

taux de perte = $1 - Pt1 \times W^{Pt2}$

Les paramètres Pt1 et Pt2 ont été calibrés sur les données expérimentales.

3) Simulation

Les variables forçantes sont la température (moyenne journalière entre le maximum et le minimum observé) et la concentration de la colonne d'eau en chlorophylle a + phéopigments convertie en unité énergétique (Joules/litre). Comme le montrent les figures 4 et 5, ces 2 variables présentent des fluctuations importantes à court terme (quelques jours). Aussi, le pas de temps choisi est de 1 jour. Une interpolation linéaire est réalisée entre deux dates d'échantillonnage. Les conditions initiales sont le poids moyen de chair sèche sans cendre (89 mg) et de coquille (1706 mg) calculés sur un échantillon de 30 individus du lot de palourdes constituant le semi en début d'expérience. Les variables de sortie du modèle sont le poids de chair sèche sans cendre et le poids de coquille, calculés à chaque pas de temps.

4) Analyse de sensibilité

Le modèle biologique proposé prend en compte différents mécanismes physiologiques. L'analyse de sensibilité a ici pour but de déterminer l'importance relative de ces divers «compartiments» et la justesse de leur formulation. Pour cela, la contribution relative de l'incertitude des divers paramètres sur l'incertitude de sortie du modèle a été estimée.

Une méthode d'analyse de sensibilité globale est utilisée selon le principe évoqué par Majkowski (1982). On fait varier simultanément des paramètres autour de leur valeur nominale de façon aléatoire. Un critère (C) correspondant à la somme des écarts d'une variable de sortie (calculée à chaque pas de temps) par rapport à la simulation nominale, mesure l'influence d'un jeu de paramètres sur le modèle. La distribution des erreurs sur chaque paramètre (P_i) est choisie normale de moyenne la valeur nominale du paramètre (P_{io}) et d'écart-type un pourcentage de cette moyenne. Si ces erreurs sont suffisamment faibles, la réponse du modèle est alors linéaire par rapport aux paramètres d'entrée :

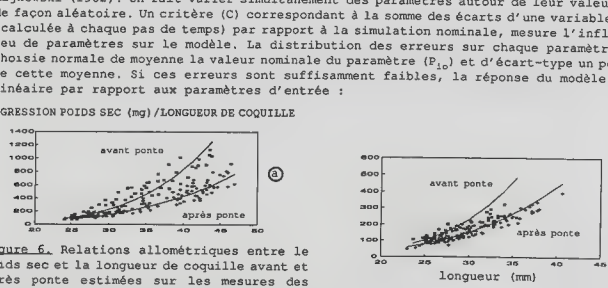


Figure 6. Relations allométriques entre le poids sec et la longueur de coquille avant et après ponte estimées sur les mesures des bassins B3 (6a) et appliquées aux données du bac B8 (6b). Ces relations permettent d'estimer l'énergie perdue par la ponte.

$$C = Y - Y_o = \sum_{i=1}^{n} a_i \cdot (P_i - P_{io})$$

Y = cumul de la variable de sortie calculée à chaque pas de temps pour le jeu de paramètres $P_1, P_2, \ldots, P_n$.

Y_o = cumul de la variable de sortie calculée à chaque pas de temps pour le jeu de paramètres $P_{1o}, P_{2o}, \ldots, P_{no}$.

a_i = coefficient de régression affecté au paramètre P_i.

Le critère C est ainsi mesuré pour nombre N de simulations. On estime alors les coefficients de régression a_i. Un coefficient de sensibilité normalisé R_i permet de comparer l'influence des différents paramètres sur le modèle .

RESULTATS

1) ponte

En utilisant les données du bassin B3, les relations allométriques suivantes ont été obtenues (Fig. 6a) :

$Ln(W) = -9.73 + 4.49\ Ln(X)$, $r = 0.88$, $n = 95$

$Ln(W') = -7.25 + 3.64\ Ln(X)$, $r = 0.93$, $n = 90$

Les deux modèles ont été validés sur les données du bassin B8 (Fig. 6b) correspondant aux conditions de croissances les plus défavorables. On en déduit l'expression du taux de perte (P) :

$P = 1 - 1.91\ W^{-0.19}$

Une date de ponte unique au jour 221 (9 août) a été choisie pour l'application du modèle. Cette date correspond au dernier échantillon de palourdes pris en compte pour le calage du modèle $W = f(X)$ avant ponte.

2) Croissance

Les données de chlorophylle et le suivi biométrique des palourdes au milieu des bassins B3 et B8 ont été utilisés. La calibration concerne deux paramètres :

- pourcentage d'énergie disponible pour la croissance affecté à la coquille (Pratio),
- taux d'absorption (Pabs),

et a été effectuée par une méthode d'essai-erreur d'ajustement de la courbe de croissance simulée par rapport à la courbe observée.

Les travaux de suivi de croissance réalisés par Goulletquer et al. (1989), permettent de donner une première estimation

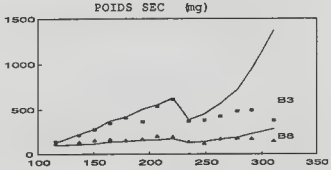


Figure 7. Croissance du poids de chair sèche individuel observée et simulée (-) au milieu des bassins B3 et B8. Le modèle est calibré sur le premier bassin et appliqué au deuxième bassin sans changement des paramètres. Les simulations sont correctement ajustées aux données jusqu'à la ponte incluse.

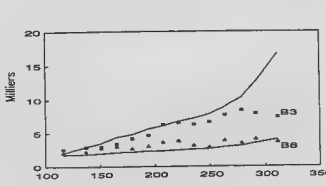


Figure 8. Simulations et observations du poids de coquille individuel dans les bassins B3 et B8.

des paramètres Pratio et Pabs, soit respectivement 12 % et 70 %. Une première simulation montre une incapacité du modèle à prédire la croissance des palourdes après la date de ponte (Fig. 7). Seules les données pré-ponte ont été utilisées dans le critère d'ajustement. Les valeurs optimisées sont relativement proches de la première estimation (Pratio = 8 % et Pabs = 64 %).

La validation du modèle biologique est effectuée sur le bassin B8 où les conditions de croissance sont peu favorables. Les résultats valident le modèle de croissance du poids de chair entre la date de mise en élevage et la période de ponte (Fig. 7) où la croissance atteind alors 200 mg. Après la ponte, l'arrêt de croissance est observé plus tardivement qu'au milieu du bassin B3.

Le poids de coquille simulé est inférieur aux observations tout au long de l'expérience (Fig. 8). Le manque de données ne nous permet cependant pas de reconsidérer les hypothèses de départ, notamment l'attribution d'un ratio fixe d'énergie de croissance attribué à la coquille au cours du temps. Le comportement général du modèle reste satisfaisant pour l'optique de ce travail, c'est à dire l'estimation de la biomasse consommée par les palourdes. Le tableau 1 donne la valeur nominale des différents paramètres du modèle.

3) Analyse de sensibilité

Deux études de sensibilité basées sur 100 simulations sont proposées en utilisant respectivement le poids sec sans cendre et le poids de coquille dans le calcul du critère (Tableau 2).

Critère calculé sur poids sec sans cendre			Critère calculé sur poids de coquille		
Paramètres	Coefficient de sensibilité	Fonction de référence	Paramètres	Coefficient de sensibilité	Fonction de référence
Pf3	22,5	F	Pf3	20,8	F
Pf4	8,9	F	Pf4	8,3	F
Pr3	7,0	R	Pr3	6,3	R
Pr4	2,0	R	Pr4	1,8	R
Pa	1,5	A	Pa	1,4	A
Pf1	1,1	F	Pf1	1,1	F
Pr1	0,7	F	Pratio	0,7	G
Allof	0,6	F	Allof	0,6	F
Pt2	0,5	P	Pr1	0,6	R
Pt1	0,4	P	Allor	0,4	R
Allor	0,4	R	Pf2	0,1	F
Pf2	0,1	F	Pt1	0,06	P
Pratio	0,1	G	Pt2	0,04	P
Pr2	0,02	R	Pr2	0,01	R

Tableau 2. Analyse de sensibilité des deux variables poids sec et poids de coquille. Les coefficients de sensibilité aux paramètres du modèle biologique sont obtenus par une méthode de Monte-Carlo à partir de 100 simulations. Pour les deux variables, on retrouve l'influence prépondérante des paramètres liés à la régulation de la filtration et de la respiration par la température. Le poids de coquille est bien plus sensible que le poids sec au paramètre décrivant le partage de l'énergie de croissance entre la chair et la coquille. Fonctions de référence: F=filtration, R=respiration, A=absorption, P=ponte, G=croissance

Dans les deux cas, on observe une influence marquée des fonctions physiologiques de filtration et de respiration sur le modèle. La valeur des coefficients de sensibilité des paramètres intervenant dans la modélisation de ces deux fonctions montre que le modèle est beaucoup plus sensible à la régulation allométrique (paramètres Allof et Allor) qu'aux fluctuations de température. Ainsi, si la forme de la relation liant filtration ou respiration à la température est une composante importante (paramètres Pf3, Pf4, Pr3 et Pr4) la faible variation du taux de ces deux fonctions entre 10 et 20°C entraîne pour les valeurs de température rencontrées, une faible sensibilité du modèle (paramètres Pf2 et Pr2).

Le coefficient de sensibilité élevé lié au taux d'absorption (Pabs) laisse suggérer qu'une

étude des facteurs environnementaux susceptibles d'intervenir dans la régulation de cette fonction pourrait améliorer la valeur prédictive du modèle, notamment la prise en compte de la fonction physiologique d'excrétion qui permettrait de différencier absorption et assimilation (assimilation = absorption - excrétion).

Contrairement au poids de coquille, l'évolution de la croissance du poids sec simulé est peu sensible au paramètre fixant le partage de l'énergie de croissance entre ces deux compartiments (paramètre Pratio). Une variation de 10% autour de sa valeur nominale a une répercussion 4 fois plus importante sur la croissance de la coquille que sur celle du poids sec. L'hypothèse formulée pour l'élaboration du modèle selon laquelle ce paramètre ne subit pas de fluctuation saisonnière, bien que discutable d'un point de vue biologique, n'a que peu d'effet sur l'évolution de la croissance du poids sec.

La sensibilité du modèle aux fluctuations des paramètres allométriques de ponte (Pt1 et Pt2) est, pour la trajectoire de croissance du poids sec, du même ordre de grandeur que celle engendrée par les fluctuations des coefficients allométriques des fonctions de filtration et de respiration, ce qui justifie l'importance que nous avons accordée à la modélisation de ce mécanisme.

DISCUSSION

La croissance individuelle de la coquille et de la chair de la palourde Ruditapes philippinarum a été simulée sur plusieurs mois dans un système intensif expérimental. La formulation des deux termes principaux de l'équation de bilan énergétique, c'est à dire la filtration et la respiration, découle de travaux réalisés dans des conditions différentes de celle rencontrées dans cette expérience en élevage intensif. Les données ont été acquises en milieu naturel et expérimental (Goulletquer et al., 1989). Cette double approche permet de corriger certaines erreurs d'estimation liées au manque d'indépendance des données environnementales en milieu naturel. Prenant en compte l'effort de reproduction, le modèle a reproduit correctement les évolutions des 2 variables dans deux bassins alimentés avec des concentrations phytoplanctoniques différentes. Cependant la croissance de la coquille a été moins bien représentée que celle de la chair. Ces deux croissances sont en fait asynchrones chez les bivalves (Hilbish, 1986). Durant la gamétogénèse la croissance de la coquille est ralentie, une grande proportion de l'énergie de croissance étant affectée à la production des gamètes. Aussi, il n'est pas parfaitement rigoureux d'utiliser un pourcentage constant de distribution de l'énergie de croissance entre chair et coquille, d'autant que la variable coquille s'est montrée sensible aux fluctuations de ce paramètre. Malgré tout, le bilan énergétique global ne dépend que très peu du bilan énergétique calculé sur la coquille, qui est de l'ordre de 10% du bilan total. La croissance est ainsi représentée principalement par la variable poids sec et la longueur, ou le poids de la coquille, ne semble pas un bon indicateur de l'état de l'individu ni de sa croissance potentielle.

Il reste à expliquer l'arrêt de croissance observé en fin d'expérimentation. La prise en compte de toute l'énergie disponible (phytoplancton - matériel détritique - bactéries) devrait accroître les performances de prédiction du modèle. La teneur en chlorophylle et phéopigments représente, en accord avec les résultats de modèles empiriques (Goulletquer et Bacher, 1988), un bon indice des capacités de croissance de la palourde. Cependant, sa valeur comme moyen de quantification de l'énergie disponible pour les palourdes semble remise en question. Cette estimation passe par l'évaluation du rapport carbone organique / chlorophylle chez Skeletonema costatum, fixé à 60. Ce rapport subit en réalité des fluctuations saisonnières en fonction de la luminance et de la température (Yoder, 1979). En automne, lorsque la luminosité décroît, une baisse de ce rapport serait susceptible d'expliquer en partie la surestimation de la croissance observée durant cette période. D'autre part, l'énergie calculée à partir de la chlorophylle ne tient pas compte de l'énergie détritique et bactérienne. Cette énergie, lorsque

la concentration phytoplanctonique est faible, constitue un apport nutritionnel non négligeable pour les bivalves filtreurs. Héral et Deslous-Paoli (1983), Raillard (1990) estiment ainsi la teneur énergétique du matériel organique détritique et bactérien par différence entre l'énergie totale du seston organique (mesurée par les protides, lipides et glucides) et l'énergie d'origine phytoplanctonique. La valeur du coefficient d'absorption, paramètre calibré sur les données expérimentales, est en accord avec celle déterminée par Sauriau (1990) chez Ruditapes philippinarum nourrie par Skeletonema costatum. Une modification du modèle visant à considérer l'énergie d'origine détritique accessible à la palourde devrait s'accompagner d'une réévaluation de ce coefficient d'absorption. En effet, bien que non négligeable, les capacités d'absorption du matériel détritique par les bivalves restent inférieures à celles observées pour le phytoplancton (Langton et Newell, 1990), notamment en raison de sa plus grande charge en minéral (Bayne et Newell, 1983).

Une étude écophysiologique de la gamétogénèse (en relation avec les facteurs jouant sur son déclenchement et sa durée) et de ses répercussions physiologiques permettrait de mieux comprendre également l'arrêt de croissance après la ponte. L'examen des courbes de croissance sur les différents bassins a révélé l'importance de la ponte sur l'évolution du poids de chair sèche. Si les données ont permis de mettre en évidence une première ponte début août, il apparait que les palourdes élevées dans de bonnes conditions nutritionnelles (bassin B3 par exemple), ont pondu une deuxième fois en septembre (Sévérin, 1990). La faible taille des échantillons n'a cependant pas permis d'évaluer la date de cette ponte. Outre la baisse possible de la valeur énergétique du phytoplancton et l'hypothèse d'une baisse de l'activité de filtration, un amaigrissement dû à une seconde ponte pourrait expliquer la divergence entre les courbes de croissances simulée et observée après la première ponte.

Ce modèle est apparu suffisamment valide, du moins jusqu'à la première ponte, pour représenter le compartiment biologique dans un modèle plus général expliquant le gradient de croissance, lié à la consommation de nourriture, entre le début et la fin de chaque bassin. Il est ainsi prévu de coupler au modèle précédent un modèle de transport particulaire bidimensionnel comprenant un terme d'advection horizontale et un terme vertical de sédimentation des cellules phytoplanctoniques.

Bacher C., 1989. Capacité trophique du bassin de Marennes-Oléron: couplage d'un modèle de transport particulaire et d'un modèle de croissance de l'huitre Crassostrea gigas. Aquat. Liv. Resour., 2, 199-214.

Baud J.P., 1988. Mise au point d'une stratégie de prégrossissement intensif en nourricerie, de naissains de palourdes (R. philippinarum) et d'huître (C. gigas) dans la région de la baie de Bourgneuf. Rap. IFREMER, DRV-88-031-RA/Bouin, 83 p.

Baud J.P., Haure J., Garnier J., 1990. Effets de l'apport de phytoplancton (Skeletonema costatum) sur la croissance et les variations de la composition biochimique de la palourde japonaise, Ruditapes philippinarum cultivée en marais. Océanis (sous-presse).

Bayne B.L., 1976. (Ed.) Marine mussels : their ecology and physiology. Cambridge University Press, Cambridge, 506 pp.

Bayne B.L., Newell R.C., 1983. Physiological energetics of marine molluscs. In, The Mollusca, 4, edited by K.M. Wilbur, A.S.M. Saleuddin, Academic Press, London, 407-515.

Berry P.F., Schleyer M.H., 1983. The brown mussel Perna perna on the Natal coast, South Africa : utilization of available food and energy budget. Mar. Ecol. Prog. Ser., 13, 201-210.

Brody S., 1945. Bioenergetics and growth. Reinhold, New York, 1023 p.

Doering P.H., Oviat C.A., 1986a. Application of filtration rate models to fields populations of bivalves : an assessment using experimental mesocosms. Mar. Ecol. Prog. Ser, 31, 265-275.

Doering P.H, Oviatt C.A., Kelly J.R., 1986b. The effects of the filter-feeding clam Mercenaria mercenaria on carbon cycling in experimental marine mesocosms. J. Mar. Res., 44, 839-861.

Goulletquer P., Bacher C., 1988. Empirical modelling of growth of Ruditapes philippinarum by means of non linear regression on factorial coordinates. Aquat. Living Resour., 1, 141-154.

Goulletquer P., Heral M., Deslous-Paoli J.M., Prou J., Garnier J., Razet D. et Boromthanarat W., 1989. Ecophysiologie et bilan énergétique de la palourde japonaise d'élevage Ruditapes philippinarum. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 132, 85-108.

Goulletquer P., Wolowicz M., 1989. The shell of Cardium edule, Cardium glaucum and Ruditapes philippinarum : organic content, composition and energy value, as determined by different methods. J. Mar. Biol. Ass. U.K., 69, 563-572.

Héral M., Deslous-Paoli J.-M., 1983. Transferts énergétiques entre l'huître Crassostrea gigas et la nourriture potentielle disponible dans le bassin ostréicole : premières approches. Océanis, 9, 169-194.

Hilbish T.J., 1986. Growth trajectories of shell and soft tissue in bivalves: seasonal variation in Mytilus edulis L. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 96, 103-113.

Laing I., Utting S.D., Kilada R.W.S, 1987. Interactive effect of diet and temperature on growth of juvenile clams. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 113, 23-38.

Langton C.J., Newell R.I.E., 1990. Utilization of detritus and bacteria as food sources by two bivalve suspension-feeders, the oyster Crassostrea virginica and the mussel Geukensia demissa. Mar. Ecol. prog. ser., 58, 299-310.

Majkowski J., Waidood K.G., 1981. A procedure for Evaluating the Food Biomass Consumed bye a Fish Population. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 38, 1199-1208.

Majkowski J., 1982. Usefulness and Applicability of Sensitivity Analysis in a Multispecies Approach to Fisheries Management. In Pauly, D. and Murphy G.I (eds.) Theory and management of tropical fisheries. ICLARM Conference Proceedings , 9, 360 p.

Mann R., 1979. The effect of temperature on growth, physiology, and gametogenesis in the manila clam Tapes philippinarum. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 38, 121-133.

Mohlenberg F., Riisgard H.U., 1979. Filtration Rate, Using a New Indirect Technique, in Thirteen Species of Suspension-Feeding Bivalves. Marine Biologie, 54, 143-147.

Platt T., Irwin B., 1973. Caloric content of phytoplancton. Limnol. Oceanogr., 18, 306-309.

Raillard O., 1990. Modélisation du comportement nutritionnel et de croissance de l'huître japonaise Crassostrea gigas. Rap. ECOCEAN, 34 p.

Saurlau P.M., 1990. Etude de la physiologie de la palourde japonaise cultivée en Intensif avec Skeletonema Costatum. Rap. ECOCEAN, 54 p.

Sévérin P., 1990. Optimisation de la culture intensive de la palourde japonaise Ruditapes philippinarum (Adam, Reeve) en marais. Rap. IFREMER Bouin DRV/90, 1-50.

Smaal A.C., Verhagen J.H.G, Coosen J., Haas H.A., 1986. Interaction between seston quantity and quality and benthic suspension feeders in the Oosterschelde, the Netherlands. OPHELIA, 26, 385-399.

Strickland J.D.H, 1960. Measuring the production of marine phytoplancton. Bull. Fish. Res. Bd. Can., 122, 1-172.

Suzuki R., Fujita. Y., 1986. Chlorophyll decomposition in Skeletonema costatum : a problem in chlorophylle determination of water samples. Mar. Ecol. Prog. Ser., 28, 81-85.

Verhagen J.H.G., 1982. A distribution and population model of the mussel Mytilus edulis in Lake Grevelingen. 3rd International Conf. on State-of-the-Art in Ecological Modelling, Colorado State Univ., May 24-28, 11 p.

Wildish D.J., Kristmanson D.D., 1984. Importance to mussels of the benthic boundary layer. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 41, 1618-1625.

Yap W.G., 1977. Population Biology of the Japanese Little-neck Clam, Tapes phillipinarum, in Kaneohe Bay, Oahu, Hawaiian Islands. Pacific Science, 31, 223-244.

Yoder J.A, 1979. Effect of temperature on light-limited growth and chemical composition of Skeletonema costatum. J. Phycol, 15, 362-370.

Société Française de Malacologie
ASPECTS RÉCENTS DE LA BIOLOGIE DES MOLLUSQUES
Ifremer, Actes de Colloques, no. 13, 1992, p. 83-96

8

MESURE DE LA RETENTION DE *SKELETONEMA COSTATUM* PAR *RUDITAPES PHILIPPINARUM* (MOLLUSQUE, BIVALVE) EN FONCTION DE LA LONGUEUR DES COLONIES ALGALES : PRINCIPES METHODOLOGIQUES

SAURIAU P.G.[1] et BAUD J.P[2].

[1] *Laboratoire de Biologie Marine, 2, rue de la Houssinière, 44072 NANTES Cédex 03*

[2] *IFREMER, Polder des champs, 85230 BOUIN*

RESUME : La détermination de l'influence du polymorphisme en longueur de la diatomée coloniale *Skeletonema costatum* sur les capacités écophysiologiques du mollusque bivalve *Ruditapes philippinarum* a nécessité une transformation des données habituellement obtenues par les compteurs électroniques de particules. Les résultats volumétriques obtenus lors des comptages peuvent être convertis en résultats métriques sous trois conditions : stabilité du diamètre valvaire intrachaîne algale, indépendance entre la longueur des colonies algales et leur diamètre valvaire, taux de coïncidence du comptage des particules voisin de zéro. Après vérification expérimentale de ces trois conditions, la longueur moyenne (l) d'une chaîne de *S.costatum* est reliée au diamètre valvaire moyen (d) des colonies et au diamètre sphérique (D) propre à chaque canal du compteur de particules. La formulation est : $l = 4\ D^3 / 6\ d^2$. L'application de cette méthode de calcul est discutée.

Mots clés : diatomée coloniale, *Skeletonema costatum*, nutrition, *Ruditapes philippinarum*

DETERMINATION OF RETENTION EFFICIENCY OF *SKELETONEMA COSTATUM* BY *RUDITAPES PHILIPPINARUM* (MOLLUSCA, BIVALVIA) RELATED TO THE SIZE OF THE DIATOM ALGAE : METHODOLOGICAL ASPECTS

ABSTRACT : *Based on Coulter Counter data, a new method is proposed to study the influence of the polymorphous variabiliy in size as well as in shape of the diatom species* Skeletonema costatum *on the physiological performances of the Manila clam* Ruditapes philippinarum. *Three conditions are required in order to convert volumetric data determined with the Coulter Counter into metric data, i.e.(1) stability of the pervalvar diameter of the diatom chains, (2) statistical independence between length and pervalvar diameter of the diatom chains, and (3) negligible level of coincident passages through the aperture orifice. Under these three conditions, the mean length (l) of a S.costatum chain can be related to the mean pervalvar diameter (d) of diatom chains and to the spherical diameter (D) of each channel of the Coulter Counter. The mean length (l) of a* S.costatum *chain is then estimated by* $l = 4\ D^3 / 6\ d^2$. *Application of this analytic method is discussed.*

Keywords : size, diatom, *Skeletonema costatum*, feeding, *Ruditapes philippinarum*

INTRODUCTION

La présence d'eau salée souterraine de composition minérale constante et à faible profondeur dans le sous-sol des marais de l'Ouest de la France a permis de promouvoir dans les Pays de Loire l'aquaculture intensive de la palourde japonaise *Ruditapes philippinarum* (Adams et Reeve) à partir d'une nourriture phytoplanctonique mono-spécifique de *Skeletonema costatum* Greville (Baud et Dréno, 1987; Baud et Haure, 1989). Après la maîtrise des techniques permettant d'effectuer le prégrossissement (Baud et Bacher, 1990) et le demi-élevage de *R. philippinarum* (Baud et Haure, 1989), la mise au point de l'élevage intensif jusqu'à une taille commerciale a nécessité la quantification des effets de nombreux paramètres. Outre l'optimisation des divers paramètres aquacoles permettant de minimiser les coûts de production tout en maximisant les performances de croissance de *R. philippinarum* (Baud *et al.*, 1990) il est apparu nécessaire de déterminer l'éventuelle influence de la variabilité morphologique de la nourriture monospécifique utilisée. En effet, *Skeletonema costatum* est une diatomée coloniale qui forme des chaînes de longueur et de diamètre valvaire variables (Berland *et al.*, 1973; Hasle, 1973; Paasche, 1973). Cette forte variabilité morphologique peut alors avoir deux conséquences majeures. La première concerne une possible répartition spatiale non homogène de l'algue aussi bien verticalement qu'horizontalement dans la colonne d'eau du système d'élevage, du fait d'une vitesse de sédimentation corrélée à la longueur des colonies (Smayda et Boleyn, 1966). La seconde conséquence consiste en une non-équiprobabilité de rétention de toutes les classes de tailles algales par le filtre branchial de la palourde japonaise (Bernard, 1983; Goulletquer *et al.*, 1989). La résolution de ces deux questions passe alors par la prise en compte de la variable "longueur de chaîne algale" lors des études de cinétique de sédimentation algale et des études écophysiologiques de rétention de *Skeletonema costatum* par le mollusque. Or les moyens analytiques classiquement utilisés pour ce faire, c'est-à-dire un compteur de particule, ne permettent pas de tenir compte directement de cette variable.

Le but du présent travail est d'exposer la méthode de calcul qui permet de transformer les résultats volumétriques obtenus par le compteur de particule en résultats métriques de façon à recomposer la structure de fréquences de longueur de la population algale analysée.

METHODOLOGIE

Le principe méthodologique est le suivant :

- le compteur de particules fournit des résultats exprimés en unité de volume d'une particule supposée sphérique (Samain *et al.*, 1985).

Soit Vsp le volume et D le diamètre de la particule fictive :

$$Vsp = \pi D^3 / 6 \qquad \text{(formule 1)}$$

- une chaîne de *Skeletonema costatum* peut être assimilée à un cylindre de diamètre d et de longueur l (Ricard, 1987; Round *et al.*, 1990).

Soit Vc le volume cylindrique de cette particule :

$$Vc = \pi d^2 l / 4 \qquad \text{(formule 2)}$$

Trois conditions sont requises pour pouvoir poser l'égalité des formules 1 et 2. Ces hypothèses sont :

1. Diamètre valvaire intrachaîne constant

Bien qu'il puisse exister des exceptions, principalement démontrées expérimentalement (Round *et al.*, 1990), les divisions cellulaires nécessaires au mode de reproduction végétatif des diatomées

s'accompagne généralement d'une diminution du diamètre valvaire de la cellule algale (Round, 1972). Ce phénomène n'est cependant pas illimité car lorsque la diminution du diamètre valvaire atteint 60 à 80% de la valeur initiale, il y a induction d'une reproduction sexuée (Drebes, 1977). Ces phénomènes de reproduction sexuée peuvent aussi être induits par des facteurs de l'environnement et ils aboutissent alors à la formation d'auxospores : c'est l'auxosporulation. Le diamètre valvaire reprend alors sa valeur maximale (Drebes, 1977).

Toute population naturelle de *Skeletonema costatum* est ainsi constituée d'un mélange de colonies de diamètre très variable. Dans le cas de la culture de *S. costatum* sur eau de forage, le diamètre valvaire prend des valeurs extrêmes allant de 2,5 µm à 10 µm pour une moyenne de l'ordre de 4 à 5 µm (Fig. 1). Le polymorphisme se traduit aussi en longueur avec un nombre de cellules par colonie variant de 2 à 20 pour une valeur modale de 6 cellules par colonies, ce qui correspond à une taille de 50 µm. Il est rarement observé dans ce milieu de culture des chaînes de plus de 20 cellules (taille supérieure à 160 µm).

Au sein d'une même chaîne de *Skeletonema costatum*, les divisions cellulaires successives induisent une diminution de diamètre valvaire entre la cellule mère et les cellules filles formées. Cette diminution dépend, en théorie, d'une part du nombre de divisions cellulaires et, d'autre part, de l'épaisseur de la paroi des valves siliceuses. L'hypothèses d'une invariance du diamètre valvaire intrachaîne est testée à partir des photographies prises en microscopie électroniques à balayage et estimation de l'épaisseur des valves siliceuses.

2. Type de relation entre la longueur de la chaîne et le diamètre valvaire.

Une observation rapide de la morphologie des chaînes de *Skeletonema costatum* (Fig. 1 et 2) laisse supposer l'existence d'une

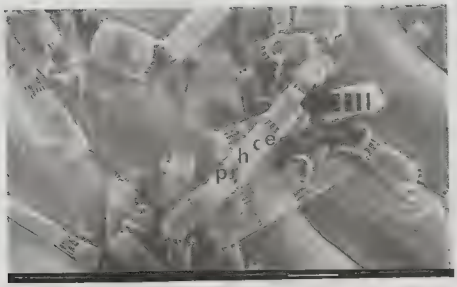


Fig. 1. Photographie prise en microscopie électronique à balayage d'un échantillon de colonies de *Skeletonema costatum* cultivée sur eau de forage. Mise en évidence du polymorphisme du diamètre valvaire. Echelle de 10 µm. Selon la terminologie de Anonymous (1975) : e = épivalve, h = hypovalve, pr = processus renforcés et c = cingulum. Flèche : colonie de 4 cellules.

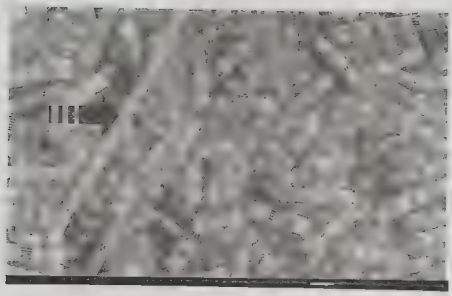


Fig. 2. Photographie prise en microscopie électronique à balayage d'un échantillon de colonies de *Skeletonema costatum* cultivée sur eau de forage. Mise en évidence du polymorphisme en longueur. Echelle de 10 µm. Flèche : colonie de 12 cellules.

relation entre la longueur de la chaîne et son diamètre valvaire. Il apparaît en effet de longues colonies de diamètre cellulaire petit à moyen et de courtes colonies voire des cellules isolées de fort diamètre. De manière à préciser cette relation et en évitant un possible artefact dû aux préparations nécessaires à l'observation en microscopie électronique à balayage, 200 chaînes algales ont été observées *in vivo* en microscopie optique. Les mensuration ont été effectuées au micromètre avec une précision de 0,5 µm.

3. Taux de coïncidence particulaire voisin de zéro

Lors du fonctionnement du compteur de particules TA II, le passage simultané de plusieurs particules dans l'orifice de la sonde permet de définir le taux de coïncidence. Il est possible de diminuer ce taux de coïncidence soit en augmentant le diamètre de la sonde (pour le cas de *Skeletonema costatum* une sonde de diamètre 100 µm a été retenue), soit en diminuant la concentration de la suspension algale mesurée. C'est la solution qui a été adoptée. La suspension algale utilisée expérimentalement contient 200 cellules par µl. Une dilution au 1/5 permet de se rapprocher des conditions optimales de mesure au compteur de particules avec un taux de coïncidence variant de 0 à 5%.

Dans le cas contraire, lorsque le taux de coïncidence dépasse 5%, cela équivaut à mesurer plusieurs particules simultanément et à introduire un biais qui a pour conséquence de surestimer la proportion de chaînes algales de grand volume et donc de grande taille.

RESULTATS

Hypothèse de stabilité du diamètre valvaire intrachaîne

D'après Hasle (1973) l'épaisseur des valves de *Skeletonema costatum* peut être estimée à environ 220 10^{-3} µm, valeur confirmée par nos

propres observations en microscopie électronique à balayage. Ainsi pour une chaîne de 8 cellules formée après 3 divisions successives et d'un diamètre moyen de 5 µm, la perte de diamètre entre la cellule mère et la plus petite cellule doit atteindre 1,32 µm soit 26,4% du diamètre initial : le calcul est 3x(0,220x2)/5). Or, l'observation d'échantillons de *Skeletonema costatum* en microscopie électronique à balayage montre qu'à l'échelle d'une colonie la diminution de diamètre valvaire est négligeable. Il apparaît par exemple sur la figure 2 une colonie de 12 cellules dont le diamètre valvaire reste voisin de 5 µm. Cette colonie possède bien 12 cellules car l'observation de l'échantillon a été effectuée à un stade de division cellulaire pour lequel les processus renforcées qui unissent deux cellules filles sont encore enveloppés du *cingulum* (le *cingulum* est formé de pièces siliceuses qui unissent l'épivalve et l'hypovalve de chaque cellule algale). Il apparaît, pour preuve, au centre de la figure 2 une colonie de 4 cellules à un stade de division ultérieur pour lequel le *cingulum* commence à se déchirer et laisse apparaître les processus renforcés unissant deux cellules filles.

Cette divergence de résultat a été analysé par Round (1972). Il indique alors que pour de nombreuses espèces de diatomées la morphologie particulière du *cingulum* permet de compenser tout ou partie de la réduction de taille des valves imposée par la division cellulaire.

En définitive, l'hypothèse d'une stabilité du diamètre valvaire dans une chaîne algale de *Skeletonema costatum* n'est pas rejetée : le biais introduit par les diminutions successives de ce diamètre au cours des divisions cellulaires dans une même colonie peut être négligé au vu de la longueur moyenne de ces colonies dans le milieu de culture utilisé. Round *et al.* (1990) indiquent que ce n'est qu'au bout de très nombreuses divisions cellulaires que la diminution du diamètre valvaire chez les diatomées est sensible.

Relation entre la longueur et le diamètre valvaire

Le graphe de dispersion entre la longueur d'une colonie et son diamètre valvaire est représenté sur la figure 3. Bien que la dispersion du diamètre apparaissent plus élevée pour les chaînes de longueurs réduites, les résultats de la régression linéaire du diamètre à la longueur d'une colonie indiquent qu'au seuil usuel de 5% (Tableau I) :

- le coefficient de corrélation linéaire n'est pas significatif,
- la pente de la droite de régression n'est pas significativement différente de 0,
- l'hypothèse de dépendance linéaire entre le diamètre cellulaire et la longueur de la colonie de *Skeletonema costatum* est rejetée,
- l'estimation du diamètre valvaire moyen d'une colonie est d = 4,66 ± 0,16 µm (n=200).

En définitive, l'hypothèse d'une indépendance linéaire entre le diamètre valvaire et la longueur de la colonie n'est pas rejetée.

Validation de la formulation

Les trois hypothèses précédentes étant validées, l'égalité des formules 1 et 2 donne la valeur de la longueur de la chaîne de *Skeletonema costatum* (l) en fonction du diamètre valvaire moyen (d) et du diamètre (D) du canal du compteur de particule. La formule (3) est la suivante :

$$Vsp = Vc \Rightarrow l = 4 D^3 / 6 d^2$$

La détermination de d est expérimentale. Elle dépend de la population cultivée et des conditions de culture. La détermination de D dépend du type de compteur de particules utilisé, du nombre de canaux disponibles, de l'étalonnage effectué et du type de sonde utilisée dont le diamètre de l'orifice doit être adapté à la taille des particules mesurées.

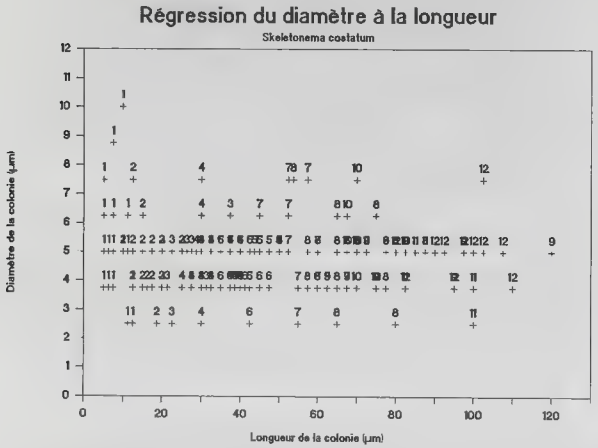


Fig. 3. Graphe de dispersion de la longueur au diamètre valvaire de *Skeletonema costatum*. Le chiffre au-dessus de chaque croix indique le nombre de cellules par chaîne algale.

Paramètre	Estimation	Ecart type	T	Proba.
Ordonnée	4,75	0,16	29,6	$< 10^{-5}$
Pente	$-2,05\ 10^{-3}$	$2,92\ 10^{-3}$	-0,7	0,48

Coefficient de corrélation R : -0,05
Pourcentage de variance extrait R^2 : $2,50\ 10^{-3}$
Nombre d'observations n : 200

Tableau I : Résultats de la régression linéaire du diamètre à la longueur des colonies de *Skeletonema costatum*.

Conversion des résultats bruts en longueur de chaîne algale

L'utilisation d'un compteur de particule de type TA II avec une sonde de diamètre 100 µm et d'un étalonnage du canal 11-12 à l'aide de particules sphériques de 18,6 µm permet par application de la formule (3) de sélectionner les canaux du compteur de particules susceptibles de comptabiliser les chaînes de *Skeletonema costatum* (Tableau II).

Seuls les résultats numériques obtenus pour ces canaux sélectionnés seront utilisés par la suite dans le calcul des différents taux définis en écophysiologie (Anonymes, 1988).

Compteur de particules canal	Diamètre sphérique	*Skeletonema costatum* Longueur	Sélection des canaux	Facteur de conversion
	(µm)	(µm)		
1- 2	1,85	0,2	non	0
2- 3	2,33	0,4	non	0
3- 4	2,93	0,8	non	0
4- 5	3,69	1,5	non	0
5- 6	4,65	3,1	oui	1
6- 7	5,86	6,2	oui	1,07
7- 8	7,38	12,3	oui	2,19
8- 9	9,30	24,7	oui	4,62
9-10	11,72	49,4	oui	8,75
10-11	14,76	98,7	oui	11,04
11-12	18,60	197	non	0
12-13	23,43	395	non	0
13-14	29,53	790	non	0
14-15	37,20	1580	non	0
15-16	46,87	3161	non	0

Tableau II : Correspondance entre le diamètre sphérique du compteur de particule type TA II et la longueur des chaînes de *Skeletonema costatum* (diamètre 4,66 ± 2,23 µm). Les canaux sélectionnées sont ceux où peuvent apparaître une colonie de *S. costatum*.

Conversion des longueurs en nombre de cellules algales

Les résultats précédents doivent subir une seconde conversion. En effet, pour *Skeletonema costatum*, les concentrations algales dans le milieu de culture sont exprimées en nombre de cellules algales par unité de volume et non en nombre de colonies par unité de volume. Ce nombre est habituellement déterminé par observations en microscopie optique et numérations des colonies sur cellule de Malassez (Baud et Haure, données non publiées). L'expression des résultats en écophysiologie se faisant sous une forme standard en équivalent énergétique (Anonymes, 1988), les teneurs énergétiques de la nourriture phytoplanctonique sont exprimées en Joules mais toujours par rapport à ce nombre de cellules algales par unité de volume de culture.

De ce fait, il est nécessaire d'appliquer aux données issues du compteur de particules et qui sont déjà transformées en longueur de chaîne algale, un facteur de conversion moyen permettant d'exprimer les résultats en nombre de cellules algales. Les résultats de la régression linéaire du nombre de cellules à la longueur d'une chaîne de *Skeletonema costatum* fournissent la base du calcul de ce facteur de conversion (Fig. 5 et Tableau III).

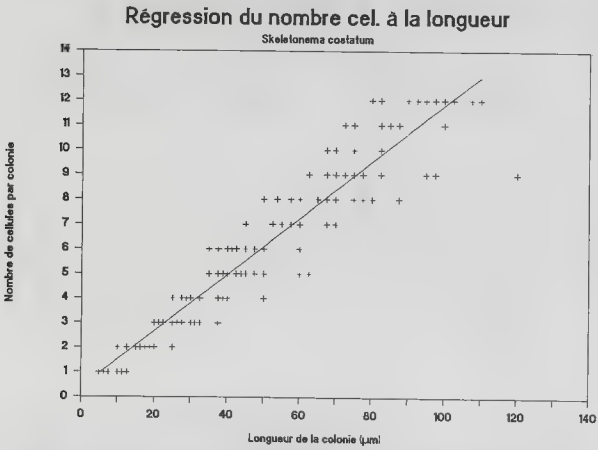


Fig. 5. Graphe de dispersion de la longueur au nombre de cellules algales constituant une chaîne de *Skeletonema costatum*. La droite de régression linéaire est figurée.

Paramètre	Estimation	Ecart type	T	Proba.
Ordonnée	0,381	0,141	2,70	0,007
Pente	0,114	0,002	44,65	$< 10^{-5}$

Coefficient de corrélation R	0,95
Pourcentage de variance extrait R^2	0,91
Nombre d'observations n	200

Tableau III : Résultats de la régression linéaire de la longueur au nombre de cellules des colonies de *Skeletonema costatum*.

Ainsi chaque canal du compteur de particules est affecté d'un facteur de conversion qui tient compte de la distribution de fréquences de longueur des colonies de *Skeletonema costatum* dans la classe de longueur affecté à ce canal. Par exemple, pour le modèle TA II, le canal 8-9 représente une longueur de chaîne algale comprise entre 24 et 48 µm (Tableau II) ce qui correspond à des colonies de 3 à 6 cellules. Le facteur de conversion moyen affecté à ce canal est déterminé expérimentalement et a pour valeur 4,62 (Tableau II).

Il faut cependant noter que les valeurs de ces facteurs de conversion n'ont rien d'absolu. Ils dépendent étroitement de la structure de fréquences de longueur des colonies de *Skeletonema costatum* utilisée ainsi que de la classe de longueur algale affectée à chaque canal du compteur de particules.

Loi de distribution du diamètre valvaire

A l'échelle de la culture de *Skeletonema costatum*, les effets de la diminution du diamètre valvaire au cours des divisions cellulaires étant de nature multiplicative, la loi de distribution du diamètre valvaire doit *a priori* être représentée par une loi lognormale. Cependant la comparaison par un test du Chi-2 de la distribution du diamètre valvaire mesuré en microscopie optique avec une distribution lognormale indique qu'au seuil de 5% l'écart est significatif (X^2 calculé = 39,3 et pour 2 degrés de liberté X^2 tabulé = 5,99). Cet écart s'explique pour l'essentiel par une trop forte proportion de colonies de diamètre 4,50 à 5,75 µm (Fig. 4A). Ce résultat laisse supposer la présence d'une erreur systématique liée aux approximations des mesures lors de l'observation en microscopie optique.

Un nouveau jeu de mesures est alors réalisé à partir des photographies prises en M.E.B., permettant un changement de précision des mesures (Fig. 4B). La comparaison par un test du Chi-2 entre les deux distributions indique qu'au seuil de 5% l'hypothèse d'une loi de

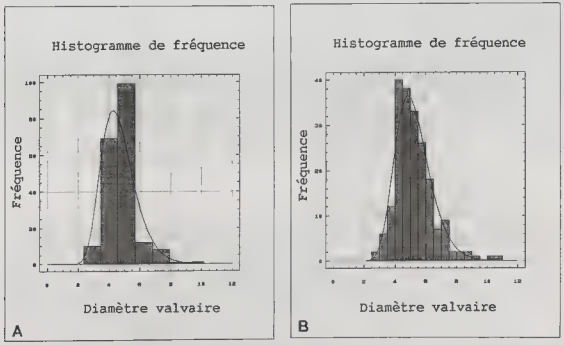


Fig. 4. Histogramme de fréquence du diamètre valvaire de *Skeletonema costatum*. A : mesures en microscopie optique (précision 0,75 µm, intervalle de classe 1,25 µm, n=200 : hypothèse de lognormalité rejetée). B : mesures sur photographies en M.E.B. (précision 0,2 µm, intervalle de classe 0,5 µm, n=200 : hypothèse de lognormalité acceptée).

distribution lognormale du diamètre valvaire ne peut être rejetée : X^2 calculé = 8,6 et pour 7 degrés de liberté X^2 tabulé = 14,1.

DISCUSSION ET CONCLUSION

Conditions d'application de la formule

L'application de la formule proposée à une population de *Skeletonema costatum* cultivée sur un milieu de culture différent ou provenant des eaux marines côtières ne doit se faire qu'après détermination du diamètre moyen (d) des colonies. En effet la morphologie de *S. costatum* est très plastique et dépend étroitement des conditions de l'environnement rencontrées au cours de la croissance algale (Hasle, 1973; Paasche, 1973; 1980); il en est d'ailleurs de même de sa composition biochimique pour les calculs des teneurs énergétiques (Gallagher *et al.*, 1984).

Pour les même raisons, la nature de la relation entre le diamètre valvaire et la longueur de la colonie doit être établie pour toute autre population algale. En effet, la longueur d'une colonie dépend non seulement de la longueur des cellules mais aussi de la taille des processus renforcés qui lient deux cellules entre elles. Harrison *et al.* (1977) ont montré que le développement de ces processus est sous l'étroite influence de la teneur en silice du milieu de culture : en cas de déficit en silice, la longueur des processus renforcés diminue.

Précision des mesures

Les erreurs commises par l'approximation du volume d'une colonie de *Skeletonema costatum* par une formulation cylindrique semblent négligeables vis-à-vis des erreurs commises lors des comptages particulaires d'autant plus que le nombre moyen de cellules par colonie est proche de 6. Kajihara (1986) précise que le coefficient de variation (rapport de l'écart type à la moyenne) d'un comptage de 200 à 300 particules est l'ordre de 5% alors qu'une valeur de 1% peut être obtenue par un comptage de 5000 particules.

Une estimation de la variance de la longueur moyenne de la colonie (l) reliée à la variance du diamètre valvaire (d) peut être réalisée. Le fait que ces deux variables soient indépendantes permet d'annuler le terme de covariance. Si la loi de distribution de diamètre valvaire (d) suivait une loi normale, les calculs classiques de variance paramétrique seraient utilisables. Dans le cas présent, la loi de distribution du diamètre valvaire étant lognormale, les méthodes d'estimation non paramétriques de la variance sont recommandées (Efron, 1979; Hall, 1987).

Intérêt de la méthode

Le compteur de particule est classiquement utilisé en planctonologie lors des suivis de croissance des espèces unicellulaires de forme sphérique (Maloney *et al.*, 1962; Robert, 1987). Il permet d'apprécier les modifications du volume cellulaire moyen au cours de la croissance algale ainsi que de déterminer les densités algales des cultures, ceci sous certaines conditions de calibration (Robert, 1987) et uniquement pour certaines espèces unicellulaires (Maloney *et al.*, 1962; Robert et His, 1987). En effet certains biais apparaissent, la principale source de biais entre les comptages au compteur de particules et les comptages optiques sur hématimètre (cellule de Malassez par exemple) ayant pour origine la présence de débris cellulaires dans le milieu de culture (Robert, 1987).

La mise au point de la détermination des densités d'algues coloniales de type *Skeletonema costatum* par compteur de particules semble envisageable mais n'a pas été pour le moment testée. Elle repose pour

l'essentiel sur le principe méthodologique ici exposé avec en complément la détermination du nombre moyen de cellules par unité de longueur de colonie algale. Ceci permet alors d'apporter un facteur multiplicatif à chaque canal du compteur de particules et d'en convertir les résultats bruts en nombre de cellules algales par unité de volume du milieu de culture. Cependant, comme le souligne Robert (1987), la présence de débris cellulaires peut biaiser ce résultat. Inversement, l'utilisation d'un compteur de particules avec un pouvoir de résolution élevé (nombre élevé de canaux) permettrait de mieux séparer deux colonies dont le nombre de cellules algales diffère d'une unité.

Le compteur de particule est aussi classiquement utilisé en écophysiologie pour déterminer le spectre de rétention des particules nutritives selon leur taille (Bernard, 1983; Anonymes, 1988). Généralement, lorsqu'ils sont exprimés en fonction de la taille des particules, les résultats se fondent sur l'utilisation directe du diamètre d'une particule imaginaire de taille sphérique, chaque classe de diamètre sphérique correspondant à un canal du compteur de particules (Bernard, 1983; Goulletquer *et al.*, 1989). Cette démarche s'avère valide et réaliste lorsque l'expérimentateur n'a aucune connaissance *a priori* sur la morphologie précise des particules de nourriture consommée, nourriture le plus souvent de nature très hétérogène (particules minérales, détritus organiques, bactéries, mélange d'algues de plusieurs espèces). Cette démarche s'avère cependant inappropriée dans les études expérimentales de nutrition dès lors que la source de nourriture algale est monospécifique, d'une morphologie s'éloignant de beaucoup d'une sphère et dont le volume peut être déterminé par un modèle géométrique simple. Il en est ainsi de la diatomée *Haslea ostrearia* Simonsen utilisée par Barillé *et al.* (sous presse) pour l'étude expérimentale du tri et de la rétention particulaire chez *Crassostrea gigas* Thunberg et dont le volume cellulaire peut être décrit par un modèle géométrique proche du tonneau (Moreau, 1989).

L'exemple de *Skeletonema costatum* traité ici tente ainsi d'illustrer une démarche qui prend en compte le polymorphisme (diamètre et longueur) d'une nourriture mono-spécifique utilisée pour l'élevage intensif de *Ruditapes philippinarum*, polymorphisme qui n'est pas sans influencer les capacités de rétention du filtre branchial de ce mollusque (Bernard, 1983). La suite logique de cette démarche est d'analyser en détail cette influence avec en particulier la mise en évidence de l'impact du polymorphisme en longueur de *S. costatum* sur les taux de capture et d'assimilation du mollusque bivalve *R. philippinarum*. L'utilisation du principe méthodologique ici exposé permet maintenant d'aborder cette analyse.

ANONYMOUS, 1975. Proposals for a standardization of diatoms terminology and diagnoses. *Nova Hedwigia Beihefte*, 53 : 323-354.

ANONYMES, 1988. Bilan énergétique chez les mollusques bivalves : terminologie et méthodologie. *Vie Marine* H.S. : 68 p.

BARILLE, L., BOUGRIER, S., ROUILLARD, I., GEAIRON, P., ROBERT, J.-M., BARILLE, A.-L. et HERAL, M.,. Etude expérimentale de la rétention et du tri de particules de grande taille chez *Crassostrea gigas*. *Haliotis*, 22 (sous presse)

BAUD, J.-P. et BACHER, C., 1990. Use of ground saline water for intensive rearing of *Ruditapes philippinarum* juveniles in a nursery system. *Aquaculture*, 88 : 157-178.

BAUD, J.-P. et DRENO, J.-P., 1987. The use of saline, grownd water for winter nursery of bivalve molluscs. *Poster Aquaculture Europe 1987 (European Aquaculture Society)*, 2 to 5 June 1987.

BAUD, J.-P. et HAURE, J., 1989. Intensive rearing of Manila clam (*Ruditapes philippinarum*) in ponds. *Poster, European Aquaculture Society*, Bordeaux 2 au 4 octobre 1989.

BAUD, J.-P., HAURE, J. et GARNIER, J., 1990. Effets de l'apport de phytoplancton (*Skeletonema costatum*) sur la croissance et les variations de la composition biochimique de la palourde japonaise, *Ruditapes philippinarum* cultivée en marais. *Oceanis* (sous presse).

BERLAND, F.R., BONIN, D.J., MAESTRINI, S.Y. et POINTIER, J.P., 1973. Etude de la fertilité des eaux marines au moyen de tests biologiques effectués avec des cultures d'algues. III. Réponses de la diatomée *Skeletonema costatum* à différentes concentrations d'éléments nutritifs. *Int. Revue Ges. Hydrobiol.*, 58 (3) : 401-406.

BERNARD, F.R., 1983. Physiology and the mariculture of some northeastern pacific bivalve molluscs. *Can. Spec. Publ. Fish. Aquat. Sci.* 63 : 24 p.

DREBES, G., 1977. Sexuality. In : The biology of diatoms. Werner D. (ed.). Botanical Monographs Vol. 13, Blackwell Scientific Publications, Oxford, : 250-283.

EFRON, B., 1979. Bootstrap methods: another look at the jack-knife. *Ann. Statis.* 7 : 1-26.

GALLAGHER, J.C., WOOD, A.M. et ALBERTE, R.S., 1984. Ecotypic differentiation in the marine diatom *Skeletonema costatum*: influence of light intensity on the photosynthetic apparatus. *Mar. Biol.*, 82 : 121-134.

GOULLETQUER, P., HERAL, M., DESLOUS-PAOLI, J.M., PROU, J., GARNIER J., RAZET, D. et BOROMTHANARAT, W., 1989. Ecophysiologie et bilan énergétique de la palourde japonaise d'élevage *Ruditapes philippinarum*. *J. Exp. Mar. Ecol.*, 132 : 85-108.

HALL, P., 1987. On the bootstrap and likelihood-based confidence regions. *Biometrika* 74 : 481-573.

HARRISON, P.J., CONWAY, H.L., HOLMES, R.W. et DAVIS, C.O., 1977. Marine diatoms grown in chemostats under silicate or ammonium limitation. III. Cellular chemical composition and morphology of *Chaetoceros debilis*, *Skeletonema costatum*, and *Thalassiosira gravida*. *Mar. Biol.* 43 : 19-31.

HASLE, G.R., 1973. Morphology and taxonomy of *Skeletonema costatum* (Bacillariophyceae). *Norw. J. Bot.* 20 : 109-137.

KAJIHARA, M., 1986. Distribution of fragile particles in the sea determined by measurements by the Coulter Counter. *La mer* 24 : 11-20.

MALONEY, T.E., DONOVAN, E.J., et ROBINSON, E.L., 1962. Determination of numbers and sizes of algal cells with an electronic particle counter. *Phycologia* 2 (1) : 1-8.

MOREAU, C., 1989. Méthode des enrichissements différentiels adaptée à l'étude de l'action de métaux traces sur la croissance et le bleuissement de la diatomée *Haslea ostrearia* Simonsen en culture. Rap. D.E.A. Océanologie, Université Pierre et Marie Curie, Paris VI : 27 p.

PAASCHE, E., 1973. The influence of cell size on growth rate, silica content, and some other properties of four marine diatoms species. *Norw. J. Bot.*, 20 : 1978-204.

PAASCHE, E., 1980. Silicon. In : The physiological ecology of phytoplankton. Morris I. (ed.). Studies in ecology Volume 7. Blackwell scientific publications, Oxforfd : 259-284.

RICARD, M., 1987. Atlas du phytoplancton marin. Volume 2. Diatomophycées. Editions du CNRS, Paris : 297 p.

ROBERT, R., 1987. Intérêt du compteur de particules ZB-ZBI et de l'analyseur C1000 pour la numération des algues unicellulaires de culture. *Rev. Trav. Inst. Pêches marit.* 49 (3 et 4) : 155-163.

ROBERT, R. et HIS, E., 1987. Croisance et spectre de tailles de six algues utilisées pour la nutrition de larves de bivalves en écloserie, en culture non renouvelée. *Rev. Trav. Inst. Pêches marit.*, 49 (3 et 4) : 165-173.

ROUND, F.E., 1972. The problem of reduction of cell size during diatom cell division. *Nova Hedwigia*, 23 : 291-303.

ROUND, F.E., CRAWFORD, R.M. et MANN, D.G., 1990. The diatoms. Biology & morphology of the genera. Cambridge University Press, Cambridge : 747 p.

SAMAIN, J.-F., HIS, E., LOEILLET, C., MOAL, J., POULET, S. et ROBERT, R., 1985. Table ronde. Utilisation du compteur Coulteur en milieu marin. Informations pratiques. *Oceanis*, 11 (5) : 481-485.

SMAYDA, T.J. et BOLEYN, B.J., 1966. Experimental observations on the flotation of marine diatoms. II. *Skeletonema costatum* and *Rhizosolenia setigera*. *Limnol. Oceanogr.* 10 : 499-509.

REMERCIEMENTS

Les auteurs tiennent à remercier Y. Rincé et J.-M. Robert pour leurs conseils et critiques ainsi que R. Hamon pour les tirages photographiques. Les photographies en microscopie électronique à balayage ont été réalisée à l'Université de Nantes (M.E.B. type JEOL 100 Cx) sous la direction de A. Barreau et Y. Rincé.

Société Française de Malacologie
ASPECTS RÉCENTS DE LA BIOLOGIE DES MOLLUSQUES
Ifremer, Actes de Colloques, no. 13, 1992, p. 97-106

9

CARACTERISATION DES HEMOCYTES D'UN MOLLUSQUE BIVALVE MARIN, LA NACRE, *PINNA NOBILIS* L. 1758

HENRY M.[1] VICENTE N.[2] et HOUACHE N.[2]

[1] *Service Commun de préparation des Echantillons pour la microscopie électronique (SCEM), BP C 41, Faculté des Sciences de Saint-Jérôme, 13397 MARSEILLE Cédex 13*

[2] *Centre d'Etude des Ressources Animales Marines (CERAM), Case 341, Faculté des Sciences de Saint-Jérôme, 13397 MARSEILLE Cédex 13*

RESUME : L'étude des affinités tinctoriales, du comportement *in vitro*, et de l'ultrastructure des hémocytes de *Pinna nobilis* permet de caractériser 2 grandes catégories cellulaires : les granulocytes basophiles, neutrophiles et éosinophiles; les hyalinocytes, parmi lesquels nous distinguerons le petit hyalinocyte, le hyalinocyte à réticulum endoplasmique lisse et le groupe des macrophages. Les hémocytes participent vraisemblablement à la régulation métabolique par stockage et dégradation du glycogène, aux processus de détoxification par accumulation d'éléments minéraux dans leurs lysosomes et à la défense de l'organisme par phagocytose et lyse bactérienne.

Mots clés : hémocytes, affinités tinctoriales, ultrastructure, fonction, *Pinna, bivalves*

HEMOCYTE CARACTERISATION OF THE MARINE BIVALVE MOLLUSC *PINNA NOBILIS*

ABSTRACT : *The study of tinctorial affinities,* in vitro *behaviour and ultrastructure of the hemocytes of* Pinna nobilis *allows us to group them into two main families : basiphilic, neutrophilic and acidophilic granulocytes; hyalinocytes, three categories can be distinguished among these cells : small hyalinocytes, hyalinocytes containing smooth endoplasmic reticulum and the macrophage population. The hemocytes participate in the regulation of metabolism by the storage and degradation of glycogen. They contribute to the detoxification process by the sequestration of mineral elements in their lysosomes. Their role in antibacterial defense is suggested by their bacterian phagocytic activity.*

Keywords : hemocytes, tinctorial affinities, ultrastructure, function ,*Pinna, bivalves*

INTRODUCTION

Les cellules de l'hémolymphe ou hémocytes ont été étudiées depuis fort longtemps chez les mollusques bivalves marins pour essayer de comprendre leurs divers états morphologiques et fonctionnels. (CUENOT, 1891; BETANCES, 1921).

Durant ces dernières décennies (revues de CHENG, 1975,1981) la participation des hémocytes à la défense des organismes est recherchée d'autant que le système immunitaire des mollusques est encore très mal connu; les bivalves d'intérêt économique important tels les huîtres (RUDDELL 1971;FENG et al., 1971; AUFFRET, 1989) les palourdes HENRY, (1987) les coquilles St- Jacques (HENRY et al., 1989) sont étudiés en priorité. De plus le rôle des hémocytes dans les processus physiologiques de détoxications (GEORGE et al., 1978) et dans la réponse aux variations des paramètres de l'environnement, température (HENRY, 1987; FISHER et al., 1987), salinité (FISHER et NEWELL, 1986) ne cesse d'être approfondi.

Dans le cadre d'un programme de recherches sur la biologie et l'écologie d'un mollusque marin de grand intérêt écologique, la nacre Pinna nobilis (VICENTE et al.,1980; COMBELLES et al.,1988) nous nous sommes attachés à étudier pour la première fois à notre connaissance les cellules hémocytaires; nous avons d'abord recherché leurs caractéristiques ultrastructurales puis leurs divers aspects fonctionnels.

MATERIEL ET METHODES

1. Matériel :Les nacres de 20 à 50 cm,ont été prélevées en plongée sous marine dans la passe de Bagaud (Ile de Port-Cros, Var, -22 m) et dans l'étang de Diane, Corse (-2 m) . Elles sont maintenues dans des aquariums de 95 litres à 18º-20ºC,la salinité est à 34/%, l'éclairage naturel; l'eau de mer est filtrée par une pompe Eheim et oxygénée par diffuseurs d'air.

2. Méthodes : L'hémolymphe est ponctionnée dans la cavité péricardique à l'aide d'une pipette Pasteur rodée. L'étalement des hémocytes est réalisé par centrifugation sur "cyto-spin" à 500 tours pendant 15 mn à la température ambiante. Les lames sont ensuite colorées au May Grünwald-Giemsa (M.G.G.) et montées au Depex. La survie des hémocytes in vitro s'effectue en flacon stérile de 50 ml. Les hémolymphes de plusieurs animaux sont cumulées de manière à recouvrir le fond d'un flacon. Les cellules sont maintenus à 18ºC-20ºC et observées au microscope inversé à contraste de phase pendant 15 mn, 30 mn, 60 mn et 90 mn. Les cellules adhérant au fond du flacon sont fixées dans une solution de glutaraldéhyde à 2% en eau de mer, pendant 60 mn à + 4ºC; elles sont ensuite lavées en tampon phosphate-saccharose 0,33 M (1v/3v) pendant 10 mn à + 4ºC et désydratées par l'alcool 95ºC pendant 10 mn, à + 4ºC. Les fonds des flacons sont sciés, rincés à l'alcool et colorés au bleu azur ou au MGG.

Microscopie électronique à transmission : Les hémocytes fraîchement ponctionnés sont fixés (v/v) avec une solution de glutaraldéhyde à 2% en tampon phosphate selon SORENSEN (0,1M, pH 7.4, + 4ºC, additionné de Nacl à 3% selon la technique de MOORE et LOWE (1977). Ils sont centrifugés en tubes Eppendorf à 1200 tours pendant 15 mn à + 4ºC; le sunageant est enlevé et remplacé par du fixateur frais pendant 45 mn à + 4ºC. Les culots cellulaires sont lavés en tampon phosphate-saccharose (0,33 M) (1v/3v) pendant 10 mn à 4ºC, puis post fixés 30 mn à 4ºC dans une solution de tétroxyde d'osmium à 2% en tampon phosphate SORENSEN 0,1 M. Après lavage de 10 mn et déshydratation à 4ºC dans des bains d'alcools les culots sont immergés 30 mn en oxyde de propylène et inclus en Epon 812 selon LUFT (1961). Les coupes ultra fines sont contrastées à l'acétate d'uranyle suivi de citrate de plomb.

Spectrométrie de rayons X : Les coupes ultra fines (100 nm) sont recueillies sur grilles recouvertes de formvar (LADD 2.5%). Le contenu des lysosomes secondaires est analysé par microanalyse qualitative de rayons X sur microscope électronique en balayage à transmission PHILIPS EM 400 T équipé d'un détecteur SI-LI (Tracor TNL 2000). *

---

* Centre Commun de Microscopie Electronique et de Microanalyse X (CERAM), Faculté des Sciences et Techniques, Saint-Jérôme, Marseille Cedex 13.

RESULTATS

1. Caractéristiques morphologiques. (Pl. I) Les hémocytes observés après centrifugation sur cyto-spin et coloration au May-Grünwald Giemsa peuvent être scindés en deux grands groupes :

1.1. Les granulocytes (Pl. I figs 1 et 2) : Ils sont caractérisés par la présence dans leur cytoplasme de très nombreux granules ronds de taille assez homogène (Pl. I fig 1). Leur noyau est arrondi, rouge vif, central ou excentré. Selon l'affinité tinctoriale des granules nous distinguerons divers types : (Pl. I, fig. 1). Les granulocytes basophiles majoritaires à granules bleus foncés (fig. 1 flèche pointillée), les granulocytes neutrophiles beaucoups moins nombreux à grains rose beige (fig. 1double flèche) les granulocytes acidophiles rares, à grains rouges vifs de petite taille. (flèche). Quelques granulocytes ont des grains mixtes.

Il existe aussi des granulocytes à grains optiquement vides (fig.2).

1.2. Les hyalinocytes (Pl. I,fig.3 à 8) :Ils sont de taille variable et leur cytoplasme est basophile. Ils peuvent être divisés en 2 groupes :

- les hyalinocytes s. st. : leur cytoplasme est parfaitement hyalin. (fig. 3 et 5 à 8). Les plus petits ont un volumineux noyau central arrondi rouge violet et un mince liseré cytoplasmique bleu. (fig.5). Les hyalinocytes de taille supérieure conprennent 1 et souvent 2 noyaux (fig.6); ils portent parfois de longs et fins pseudopodes. Certains sont de très grande taille et peuvent contenir jusqu'à neuf noyaux en région centrale, formant ainsi un plasmode (Fig.7). Ils phagocytent parfois des cellules nécrosées à noyau violet pycnotique (fig 8 flèche).

- les hyalinocytes à lysosomes de taille et forme hétérogène : Certaines de ces cellules ont un noyau central, des voiles hyaloplasmiques périphériques importants, de longs et fins pseudopodes et des lysosomes peu nombreux épars dans le cytoplasme. D'autres cellules, en nombre important ont un noyau arqué repoussé à la périphérie et un cytoplasme fortement chargé en lysosomes le plus souvent bleu foncé de forme et taille très hétérogène (fig. 4).

2. Survie in vitro : (Planche I, figs 9 à 13) 15 minutes après leur ensemencement les hémocytes adhèrent au support et sont le plus souvent isolés (fig. 9). Pendant la première demi-heure nous pouvons observer les grands voiles hyaloplasmiques des macrophages et des granulocytes (fig.10). Les granulocytes sont identifiables par l'accumulation des granules autour du noyau. Les macrophages présentent des organites cytoplasmiques plus épars dans le cytoplasme. Entre 30 mn et 60 mn. les macrophages émettent de trés longs pseudopodes (flèches) leur permettant de s'unir par groupe de 2 (fig.11) puis par plusieurs (fig. 12). Après 90 mn., les hémocytes forment de véritables dômes résultant d'un empilement de cellules au centre de la colonie (fig. 13).

3. Etude ultrastructurale :

L'analyse ultrastructurale des hémocytes de la nacre Pinna nobilis permet de distinguer deux grands types morphologiques : Les hémocytes granuleux ou granulocytes, caractérisés par un cytoplasme rempli de grains et les hémocytes hyalins ou hyalinocytes.

3.1. Les granulocytes :

- Les granulocytes à grains denses (Pl. II, fig. 1) : Ils présentent le plus souvent un noyau central à contour irrégulier; le cytoplasme est très fortement rempli de grains en majorité ronds et denses aux électrons. Le matériel granulaire est en fait d'aspect variable; il est toujours contenu dans une vacuole dont la membrane limitante plus ou moins ondulante est séparée par un espace clair de taille variable, du contenu granulaire. Au sein des vacuoles nous pouvons observer plusieurs types de grains : Les uns clairs aux électrons montrent un matériel finement granulaire plus ou moins abondant. Les autres sont ronds et denses aux électrons. Il est fréquent d'observer dans une même vacuole la fusion de deux grains denses de même taille ou de taille différente. (fig.1 flèche). Certains grains denses peuvent avoir une forme polygonale et présenter une alternance de couches claires et sombres (fig.1 double flèche).

- Les granulocytes à grains clairs : (Pl. II, fig.2). Ils sont caractérisés par un noyau arrondi repoussé à un pôle cellulaire. Leur cytoplasme contient de nombreuses vésicules et tubules de réticulum lisse, des corps multivésiculaires, des mitochondries, des ribosomes et de grandes vacuoles claires. Certaines vacuoles contiennent un matériel finement granuleux de densité moyenne aux électrons (Pl.II, fig.2 flèches).

3.2. Les hyalinocytes : Parmi les hyalinocytes nous distinguerons divers types :

- Les petits hyalinocytes (Pl. II, fig.3). Ils sont de forme ronde ou ovale et caractérisé par un rapport nucléocytoplasmique élevé. Leur noyau central contient une hétérochromatine importante. Le cytoplasme est réduit à un mince liseré et contient de nombreux ribosomes et des vésicules de pinocytose.

- Les hémocytes hyalins jeunes ou macrophages jeunes (Pl. II, fig 4) : ils présentent un noyau central riche en euchromatine. L'hétérochromatine est réparti en un fin liseré marginal et quelques mottes éparses dans le nucléoplasme. Le cytoplasme contient peu d'organelles : quelques mitochondries, de courtes lamelles ergastoplasmiques, des vésicules, de rares corps denses mais de nombreux ribosomes, souvent groupés en polysomes. A la périphérie cellulaire, nous observons les grands voiles hyaloplasmiques contenant des microfibrilles et des microfilaments sous-jacents au plasmalemme.

- Les hémocytes à réticulum lisse : (Pl. III, fig.1). Ces cellules sont caractérisées par un noyau rond central ou légèrement excentré et un cytoplasme rempli principalement de vésicules et de courts tubules. Quelques vacuoles peuvent être observées ainsi que des mitochondries, de courtes lamelles ergastoplasmiques, des rares gouttelettes lipidiques et des corps denses. La cellule émet des pseudopodes et des voiles hyaloplasmiques.

- Les hémocytes mûrs : (Pl. III, fig.2). Les hémocytes mûrs ont leur noyau repoussé à un pôle; le cytoplasme présente de nombreux et longs pseudopodes parfois refermés pour former une vacuole de phagocytose . Nous observons dans le cytoplasme des vésicules, des mitochondries, des vacuoles autophagiques et des corps denses.

- Les hémocytes âgés : (Pl. III, fig. 3 et Pl. IV). Le noyau est arqué ou polylobé et toujours repoussé à un pôle. Le cytoplasme est caractérisé par l'abondance des lysosomes secondaires.

Les lysosomes et les vacuoles de phagocytose des macrophages sont souvent très volumineux : ils contiennent des aiguilles denses aux électrons (Pl. III, fig. 3 flèches et Pl. IV, fig. 1 flèche) dont nous avons analysé la composition chimique (§ 4); nous y observons également des bactéries peu dégradées (Pl. IV, fig. 1 double flèche) ou en cours de dégradation (Pl IV, fig. 2 flèche). Certains macrophages (Pl IV, fig.3) ont ingéré une cellule nécrosée caractérisée par un noyau pycnotique et un cytoplasme altéré. D'autres (Pl. IV, fig.4) présentent de volumineux lysosomes de type vacuoles autophagiques contenant principalement de très nombreuses particules de glycogène ainsi que des mitochondries et des tubules de réticulum lisse en cours de dégradation.

4 - Analyse qualitative du contenu des lysosomes par spectrométrie de rayons X.

Le contenu des lysosomes de Pinna nobilis (Pl. III, fig. 3 et Pl IV, fig.1 flèches) a été analysé par microanalyse qualitative de rayons X. Les résultats exprimés dans la fig.1 montrent une accumulation d'éléments qui sont par ordre décroissant le Silicium, l'Aluminium, le Plomb, le Potassium et le Chlore.

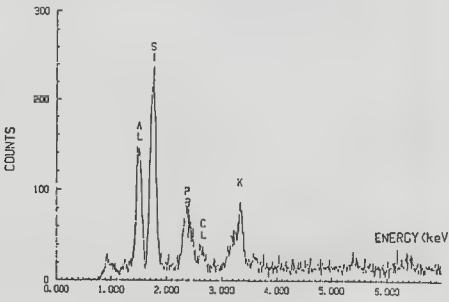


Fig. 1 : Spectrogramme des éléments détectés par analyse de rayons X dans les lysosomes des macrophages de Pinna nobilis.

DISCUSSION - CONCLUSION

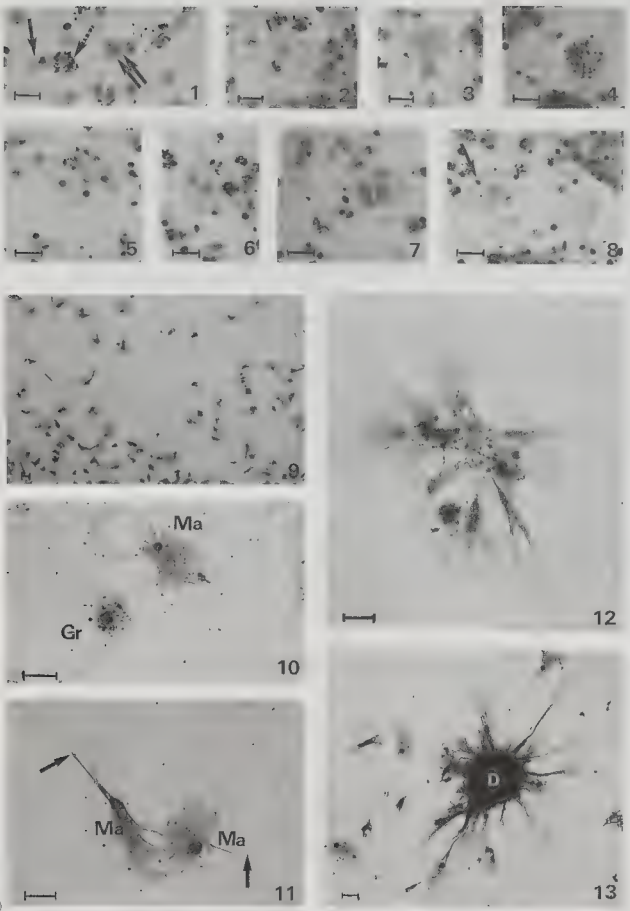
Les hémocytes de la nacre, Pinna nobilis, peuvent être scindés en deux grands groupes : les granulocytes et les hyalinocytes. Les granulocytes sont caractérisés par l'abondance de leurs grains ronds intrahyaloplasmiques. Les trois types de granulocytes - basophiles, neutrophiles et éosinophiles sont présents chez Pinna comme chez la majorité des bivalves (CHENG, 1975, 1981; AUFFRET, 1985, 1989; CHAGOT, 1989), alors qu'ils semblent totalement absents chez Pecten (AUFFRET, 1985; HENRY et al. 1989). Les granulocytes basophiles sont fortement majoritaires chez les nacres; les hémocytes à grains clairs, également nombreux, pourraient traduire un relargage des contenus granulaires dans l'hémolymphe, phénomène semblable à la dégranulation des basophiles et mastocytes de mammifères (ROITT et al., 1985). Les quelques granulocytes mixtes observés pourraient correspondre à différentes étapes de maturation des granules puisqu'il est connu depuis fort longtemps que la chromophilie d'une cellule peut varier au cours de sa morphogénèse (BETANCES, 1921). Les hyalinocytes - toujours basophiles - doivent être scindés en plusieurs groupes. Les petits hyalinocytes omniprésents chez les bivalves et désignés par convergence morphologique avec les vertébrés-lymphocytes - (MOORE et LOWE, 1977; BUBEL et al., 1977). Les hyalinocytes à réticulum lisse sont également présents chez Ostrea, Crassostrea (AUFFRET, 1985, 1989; CHAGOT, 1989) et Pecter (HENRY et al., 1989); ils pourraient être précurseurs des granulocytes (AUFFRET, 1985) ce qui n'exclut pas qu'ils puissent être une étape de maturation des macrophages ou un type hémocytaire à part entière. Les autres hyalinocytes doivent représenter les différents états de la lignée macrophagique : les stades les plus jeunes ont un noyau central, de grands voiles hyaloplasmiques, des pseudopodes et un cytoplasme hyalin. Ils se différencient en forme mûre par acquisition de grains denses hétérogènes. De tels grains contiennent chez Mercenaria (MOORE et GELDER, 1985), Mytilus (BAYNE et al., 1979) et les Ostreidae (AUFFRET, 1985) des enzymes lysomales. Les formes les plus âgés accumulent les déchets et séquestrent les polluants jouant ainsi un rôle dans la détoxification (GEORGE et al., 1978). Les hémocytes de la nacre stockent et réutilisent le glycogène, participant ainsi, - comme cela fut montré chez d'autres bivalves - à une régulation du métabolisme (CHENG, 1975; HENRY, 1987). Les hémocytes de Pinna, ainsi que ceux des huîtres (AUFFRET, 1985) ou des palourdes (HOUACHE, 1990) adhèrent au support puis confluent. Ces facultés d'adhésivité et de déplacement qui sont un indicateur de vitalité du système de défense d'un organisme (FISHER et NEWELL, 1986) suggèrent une bonne efficacité des mécanismes de défense de la nacre. De plus des plasmocytes ont été fréquemment observés dans l'hémolymphe de Pinna; ils sont semblables à ceux décrits in vitro chez Ruditapes (AUFFRET,1985) ou dans des cellules stimulées de mammifères (THOMAS et al., 1971). L'existence de ces cellules géantes traduit les capacités de déplacement et fusion des macrophages pour une meilleure défense de l'organisme. L'observation de bactéries en cours de dégradation dans les lysosomes, confirme l'activité phagocytaire et digestive des macrophages de Pinna.

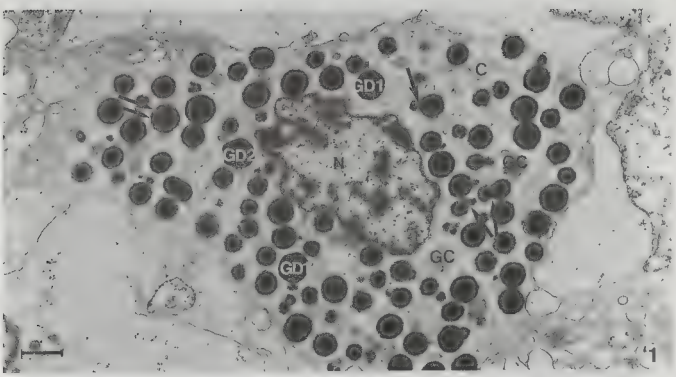
LEGENDE DES PLANCHES

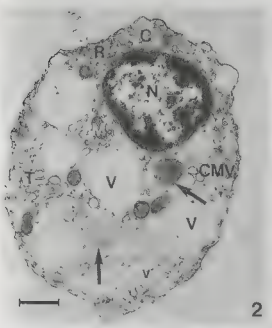
Abréviations : C = cytoplasme; CD = corps dense; CMV = corps multivésiculaire; Cn = cellule nécrosée; D = dôme; E = euchromatine; Er = ergastoplasme; G = glycogène; Gc = grain clair; GD 1 = grain dense; GD 2 = grain dense cristallisé; Gr = granulocyte; H = hétérochromatine; L = lipide; Ly = lysosome; M = mitochondrie; Ma = macrophage; Mj = macrophage jeune; N = noyau; Np = noyau pycnotique; P = polysome; Ps = pseudopode; R = ribosome; T = tubule; V = vésicule; Vp = vésicule de pinocytose; V = vacuole; VA = vacuole autophagique; VH = voile hyaloplasmique; VP = vacuole de phagocytose.

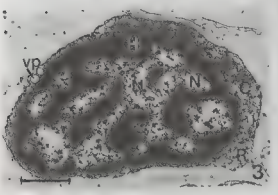
L'échelle représente 10 µm sur la planche I et 1 µm sur les planches II, III, IV.

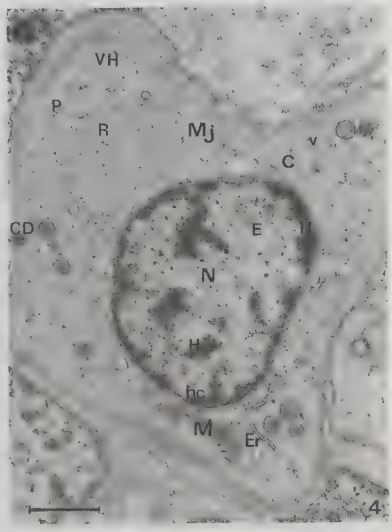
Pl. I : Figs 1 à 8 : frottis d'hémolymphe de Pinna (May Grünwald Giemsa). Fig. 1 : granulocytes éosinophile (flèche), basophile (flèche pointillée), neutrophile (flèche double). Fig. 2 : granulocyte dégranulé. Fig. 3 : macrophage jeune. Fig. 4 : macrophage âgé. Fig. 5 : hyalinocytes. Fig. 6 : hyalinocyte binucléé. Fig. 7 : plasmode. Fig. 8 : hyalinocyte géant phagocytant une cellule lysée (flèche). Figs. 9 à 13 : hémocytes en survie 15 mn. (fig. 9), 30 mn. (fig. 10), 1 h.(figs 11 et 12), 2 h.(fig. 13). (Col. Bleu Azur).


1
2
3
4
5
6
7
8
9
Ma
Gr
10
12
Ma
Ma
11
D
13

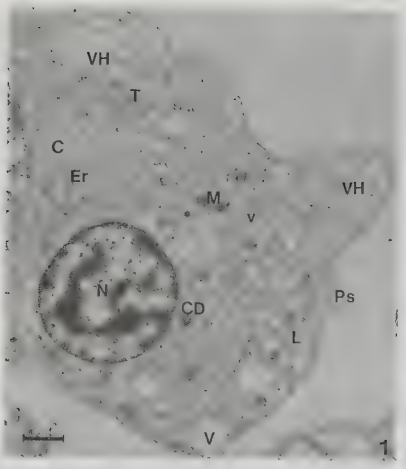


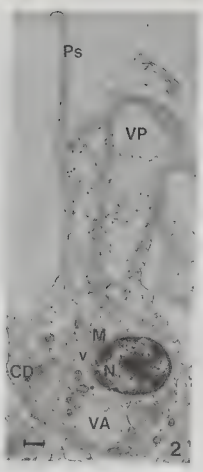


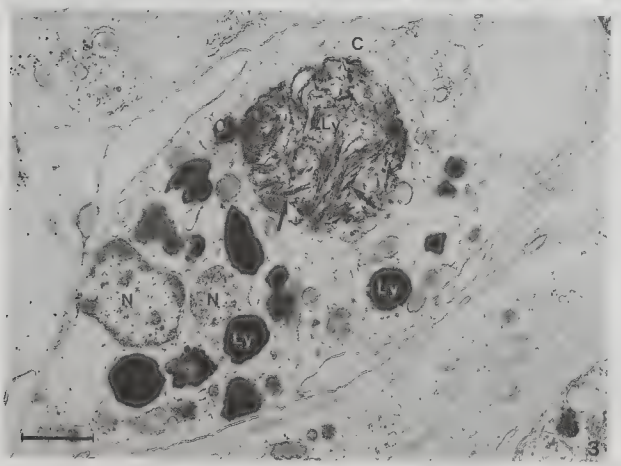




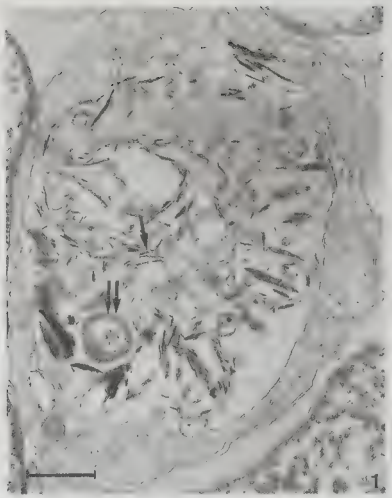
Pl. II : Fig. 1 : granulocyte ; Fig. 2 : granulocyte dégranulé ; Fig. 3 : petit hyalinocyte ; Fig. 4 : macrophage jeune.

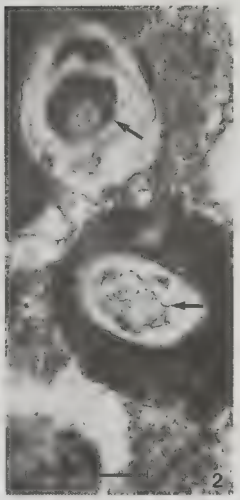


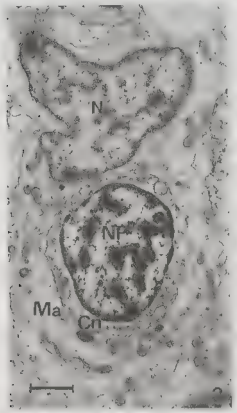


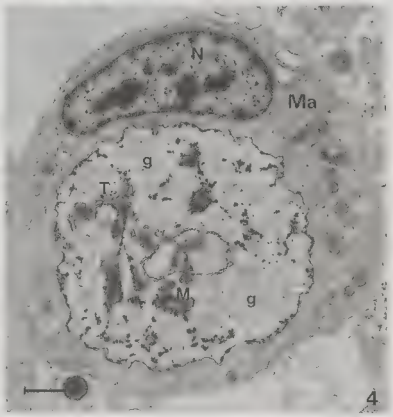


Pl. III : Fig. 1 : hyalinocyte à réticulum lisse ; Fig. 2 : Macrophage mûr; Fig. 3 : Macrophage à volumineux lysosomes.









Pl. IV : Fig. 1 : accumulation de métaux (flèche) et bactéries (flèche double) dans les lysosomes de macrophages. Fig. 2 : bactéries (flèche) dégradées dans les lysosomes. Fig. 3 : Phagocytose de cellule nécrosée dans un macrophage. Fig. 4 : accumulation de glycogène dans un macrophage.

AUFFRET, M., 1985 - Morphologie comparative des types hémocytaires chez quelques mollusques bivalves d'intérêt commercial. Thèse Doct. 3ème cycle, U.B.O., Brest, 147 p.

AUFFRET, M., 1989 - Comparative study of the hemocytes of two oyster species : the european flat oyster, Ostrea edulis, Linnaeus, 1750 and the pacific oyster, Crassostrea gigas, Thunberg, 1793. J. Shell Fisch. res., 8 : 367 - 373.

BAYNE, C.J., MOORE, M.N., CAREFOOT, T.H. & THOMPSON, R.J., 1979. Hemolymph functions in Mytilus californianus : The cytochemistry of hemocytes and their responses to foreign implants and hemolymph factors in phagocytosis. J. Invertebr. Pathol. 34 : 1-20.

BETANCES, L.M., 1921. Les cellules du sang de quelques lamellibranches. Arch. Anat. Microsc. 18 : 309-327.

BUBEL, A., MOORE, M.N. & LOWE, D., 1977. Cellular responses to shell damage in Mytilus edulis L. J. Exp. Mar. Biol. ecol., 30 : 1-27.

CHAGOT, D.J., 1989. Caractérisation morphologique et fonctionnelle des hémocytes d'Ostrea edulis et de Crassostrea gigas, mollusque bivalves. Etude in vitro de leurs intéractions avec le protozoaire Bonamia ostreae (Acetospora). Dipl. Ec. Pr. Hautes Etudes; Montpellier, 72 p.

CHENG,T.C., 1975. Functional morphology and biochemistry of molluscan phagocytes. Ann. N.Y. Acad. Sci., 266 : 343 - 379.

CHENG, T.C., 1981. Bivalves, in Invertebrate blood cells; N.A. Ratcliffe & A. Rowley eds. Acad. Press, London, 233 - 300.

COMBELLES, S, MORETEAU, J.C. et VICENTE, N., 1988. Contribution à la connaissance de l'écologie de Pinna nobilis L. (Mollusque Eulamellibranche). Sci. Rep. Port-Cros, Nat. Park, Fr., 12 : 29-43.

CUENOT, L., 1891. Etudes sur le sang et les glandes lymphatiques dans la série animale. Arch. Zool. Exper., 9 : 13 - 90.

FENG, S.Y., FENG, J.S., BURKE & KHAIRALLAH, 1971. Light and electron microscopy of the leucocyte of Crassostrea virginica (Mollusca-Pelecypod). Z. Zellforsch Mikrosk. Anat., 120 : 222-245.

FISHER, W.S. & NEWELL, R.I.E., 1986. Salinity effects on the activity of granular hemocytes of american oysters, Crassostrea virginica. Biol. Bull., 170 : 122 - 134.

FISHER, W.S., AUFFRET, M. & BALOUET, G., 1987. Responses of European Flat Oyster (Ostrea edulis) hemocytes to acute salinity and temperature changes. Aquaculture, 67 : 179 - 190.

GEORGE , S.C., PIRIE, B.J.S., CHEYNE, T.L. COMBS, T.L. & GRANT, P.T., 1978. Detoxication of metals by marine bivalves : An ultrastructural study of the compartimentation of copper and zinc in the oyster Ostrea edulis. Mar. Biol., 45 : 147 - 156.

HENRY, M., 1987. La glande digestive de la palourde méditerranéenne Ruditapes decussatus L. Recherches ultrastructurales, cytochimiques, écophysiologiques et écotoxicologiques. Thèse Doct. es Sci., Univ. Aix-Marseille III, 439 p.

HENRY, M., AUFFRET, M. & BOUCAUD-CAMOU, E., 1989. Aspects ultrastructuraux et fonctionnels des hémocytes de quatre familles de bivalves (Ostreidae, Veneridae, Mytilidae, Pectinidae). Haliotis, in press.

HOUACHE, N., 1990. Etude comparative des hémocytes de trois familles de mollusques bivalves marins (Pinnidae, Veneridae, Pectinidae). D.E.A. Environnement Marin. Univ. Aix-Marseille III, 43 p.

LUFT,J.H., 1961. Improvement in epoxy resin embedding methods. J. Biophys. and Biochem. Cytol., 9 : 409 - 414.

MOORE M.N. & LOWE, D., 1977. The cytology of Mytilus edulis and their responses to experimentaly injected carbon particule. J. Invertebr. Pathol., 29 : 18 - 30.

MOORE C.A. & GELDER S.R., 1985. Demonstration of lysosomal enzymes in hemocytes of Mercenaria mercenaria (Mollusca Bivalvia). Trans. Amer. Microsc. Soc., 104 : 242 - 249.

ROITT, I., BROSTOFF, J., & MALE, D., 1985. Immunologie fondamentale et appliquée. MEDSI, 197 p.

RUDDEL, C.L., 1971. Elucidation of the nature and function of the granular oyster amoebocytes through histochemical studies of normal and traumatized oyster tissus. Histochem., 26 : 98 - 112.

THOMAS, J.A. & VILAIN, C., 1971. Jonctions membranaires et fusions des histiocytes alvéolaires, après stimulation par le BCG : l'édification des plasmodes géants, in vitro. C.R. Acad. Sc., 273 : 2564 - 2567.

VICENTE, N., MORETEAU, J.C. et ESCOUBET, P., 1980. Etude de l'évolution d'une population de Pinna nobilis L. (Mollusque Eulamellibranche) au large de l'anse de la Palud (Parc National de Port-Cros).Trav.Sci.Nation.Port-Cros,6 : 39-68.

Société Française de Malacologie
ASPECTS RÉCENTS DE LA BIOLOGIE DES MOLLUSQUES
Ifremer, Actes de Colloques, no. 13, 1992, p. 107-112

10

ULTRASTRUCTURE ET ACTIVITE DE LA GLANDE SALIVAIRE DE *PATELLA SAFIANA* LMK (MOLLUSQUE, GASTEROPODE)

BENMERADI S.S. et BENMERADI N.

Laboratoire de Biologie et Ecologie Marine de l'Institut des Sciences de la nature USTHB, BP n° 9 Dar El Beida, ALGER, Algérie.

RESUME : L'analyse ultrastructurale de la glande salivaire de *Patella safiana* a permis de mettre en évidence deux types cellulaires. Des cellules sombres renfermant des vésicules de sécrétion arrondies de structure lamellaire dense aux électrons. Par contre, les cellules claires possèdent des grains de sécrétion homogènes d'aspect fibrillaire et parfois étoilé. Ces deux types cellulaires ont les caractéristiques cytologiques de cellules à grande activité protéosynthétique. Effectivement, nous avons pu détecter plusieurs enzymes comme les protéases, les glucosidases, les phosphatases et l'amylase.

Mots clés : ultrastructure, enzymes, glande salivaire, mollusque gastéropode

ULTRASTRUCTURE AND ENZYMATIC ACTIVITY OF THE SALIVARY GLAND OF *PATELLA SAFIANA* LMK

***ABSTRACT** : The ultrastructural study of the* Patella safiana*'s salivary gland reveals two types of cells : the dark cells containing round-shaped secretory vesicles of lamellar structure and the light cells which have homogenous and fibrous secretory granules that are star-shaped sometimes. The two types of cells have the cytological characteristics of high proteosynthetic activity cells.*

Keywords : ultrastructure, enzymes, salivary gland, *Patella safiana*, mollusca gasteropoda

INTRODUCTION

La glande salivaire est l'unique glande en relation avec la cavité buccale de Patella safiana. Graham (1964) et Pugh (1963) dénombrent deux paires de glandes salivaires chez Patella vulgata comme nous l'avons constaté chez Patella safiana . Pugh (1963) décrit en détail les structures histologique de cette glande et met en évidence deux types de cellules sécrétrices qu'il nomme I et II. Notre étude porte sur l'analyse ultrastructurale de ces deux types cellulaires chez Patella safiana, en relation avec l'analyse biochimique afin d'apprécier la part de cette glande dans l'activité digestive.

Matériel et Méthodes

Les Patelles , Patella safiana ont été prélevées à un mètre de profondeur sur des barres rocheuses à Boudouaou El Bahri à l'Est d' Alger. Après dissection du tube digestif, les glandes salivaires ont été prélevées pour une étude cytologique et biochimique.

* Etude cytologique

Nous avons pratiqué la méthode de fixation préconisée par Sabatini et Coll (1963) adaptée aux Mollusques marins , à une osmolarité de 1100 mOsm. Aprés une double fixation aldéhydique et osmiée, les pièces ont été deshydratées , puis incluses dans le mélange épon-araldite. Les blocs ont été débités à l'ultratome LKB III en coupes semi fines pour l'étude histologique et coupes fines pour l'examen au microscope elctronique à transmission. Les semi fines ont été colorées au bleu de Méthyléne- Azur II (Humphrey, 1974). Les coupes fines ont été récupérées sur des grilles de mesh 100 revêtues d'un film de collodion à 4%. Le contraste est effectué au citrate de plomb et à l'acétate d'uranyle selon la technique de Reynolds (1963) . Les observations ont été faites au microscope electronique Jeol 100 C.

* Etude biochimique

- microméthode Api-Zym : c'est une méthode semi quantitative permettant de détecter 19 activités enzymatiques dans un extrait non purifié.
- détection colorimétrique de l'amylase basée sur la digestion d'un extrait non purifié de solution d'amidon.

RESULTATS

La glande salivaire de P. safiana est une glande composée et ramifiée constituée d'acini et de tubules entourés par un tissu conjonctif peu abondant (fig. 1) . Les cellules de forme arrondie , sont chargées de grains de sécrétions . La coloration bleu de Méthyléne - Azur II a permis de différencier deux types cellulaires , des cellules claires et des cellules sombres. La lumière est même parfois virtuelle (fig. 1).

L'examen des coupes fines au microscope electronique à transmission nous a permis de caractériser ces deux types cellulaires . Les cellules sombres sont de forme triangulaire, avec une partie basale très large contenant un noyau volumineux muni d'un nucléole et d'une enveloppe nucléaire présentant de nombreux pores. Le cytoplasme périnucléaire est riche en réticulum endoplasmique rugueux (fig. 4 et 5). Le cytoplasme apical étroit est chargé de vésicules de sécrétions d'aspect lamellaire , dense,qui semblent être délimitées par une membrane unitaire (fig. 2). Les cellules claires ont un pôle apical large, chargé en vésicules de

sécrétion, refoulant le noyau vers la base de la cellule. Le noyau ,d'aspect clair, présente toujours un nucléole central et volumineux (fig. 4). Dans ce type cellulaire, les vésicules de sécrétion sont d'aspect fibrillaire et homogéne arrondies parfois de forme étoilée . Elles sont délimitées par une membrane et associées au reticulum endoplasmique rugueux (fig. 3).
A la base de l'acinus , imbriquées entre ces deux cellules sécrétrices , on note la présence de cellules indifférenciées (fig. 4). Ces dernières sont de petites tailles , avec un noyau occupant presque la totalité du cytoplasme . Dans le cytoplasme , on remarque la présence de nombreux dictyosomes (fig. 4'), par contre le réticulum et les mitochondries sont peu abondants . Ces cellules semblent être des cellules de remplacement pouvant se différencier en cellules claires ou en cellules sombres.
Par colorimétrie , nous avons pu détecter la présence d'amylase au niveau des glandes salivaires de Patella safiana. Les quantités produites sont importantes puisque nous avons retrouvé une quantité moyenne de 120 unités d'amylase pour100 ml d'extrait à un pH 5,5. Le test Api-Zym a révélé également, la présence de concentrations importantes de phosphatases, de glucosidases et de peptidases. Par contre le test est resté négatif pour les lipases, la trypsine et la chymotrypsine (Tabeau 1).

DISCUSSION

L'analyse histologique a permis à Pugh (1963) chez patella vulgata, de décrire déjà la structure acineuse de cette glande constituée de deux types cellulaires I et II correspondant respectivement aux cellules claires et sombres que nous venons de décrire chez patella safiana .
La microscopie electonique nous a permis de décrire les caractéristiques cytologiques de ces deux catégories de cellules . Les cellules claires de P. safiana possédent un noyau basal à chromatine claire, de nombreuses mitochondries, ainsi qu'un large réseau de réticulum endoplasmique rugueux, ce qui révèle une forte activité de synthése. Les produits de sécrétion sont emballés dans des vésicules claires d'aspect fibrillaire . De même , les cellules sombres ont toutes les caractéristiques des cellules à activité protéosynthétique intense. Par contre, leurs sécrétions ont un aspect différent de celle des cellules claires déjà citées. Elles sont denses et lamellaires . Ce qui confére à ces cellules leur aspect sombre . Leur activité protéosynthétique est confirmée par la detection d'une quantité importante de péptidases, de glucosidases et de phosphatases par le test Api-Zym.Les travaux portant sur l'ultrastructure des cellules secrétrices des glandes salivaires des Mollusques sont rares , ce qui ne nous a pas permis de comparer nos travaux avec d'autres auteurs.
L'amylase est touvée en concentration importante, ce qui ne coïncide pas avec les résultats de Graham(1962) qui pense que la glande salivaire de P. vulgata ne contient pas cette enzyme. Mansour-Bek (1934) signale la présence d'une variété d'enzymes protéoliques dans la glande salivaire de Murex anguliferns . Jenkins (1955) note la présence d'amylase dans celle de Littorina littorea. La présence de ces nombreuses enzymes digestives que nous avons détecté au niveau de ces glandes salivaires suggére que le phénoméne de digestion est précoce et débute déjà dans les premiers compartiments du conduit digestif.

Légende de la planche photographique

Fig.1 : Coupe semi fines de la glande salivaire de Patella safiana, colorée au bleu de méthylène Azur II. Tissu conjonctif (Tc), cellules sombres (→), cellule claire(*), lumière de l'acinus (L) . Gx80 - Fig.2 : Détail d'une vésicule lamellaire de cellule sombre (→) (M.E.T.) Gx 17500. - Fig.3 : Détail d'un grain de sécrétion de cellule claire (*) (M.E.T.) Gx 17500. Fig 4 : Vue générale d'une cellule claire (Cc) contenant un noyau (N) et des vésicules de secrétions (*). Portion de cellule sombre (Cs) contenant des sécrétions denses (→). Le noyau (N) en bas de la photo est celui d'une cellule de remplacement (Cr). (M.E.T.) Gx 3000. Fig 4' : Structure d'un golgi retrouvé dans la cellule du remplacement (M.E.T.) Gx 4000. Fig.5 : Cellule sombre riche en réticulum (Re) et grains de sécrétion (→). Elle possède également un volumineux noyau (N) muni d'un nucléole (Nu).(M.E.T.) Gx4000

GRAHAM A., 1964 - The fonctionnal anatomy of the limpet *Patella vulgata*. *Proc Roy.Soc.Lond.Zool.*, 143 : 301-329.

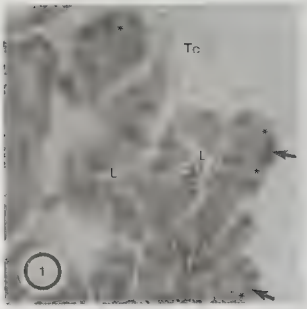
GRAHAM A. et FRETTER V., 1962 - British Prosobranch Molluscs. *Roy.Soc.Zool.Lond.*, 755p.

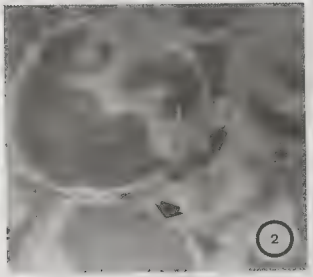
HUMPHREY C.D., 1974 - Coloration des coupes semi fines au bleu de Méthylène - Azur II *Staintechnol*, 49, 9.

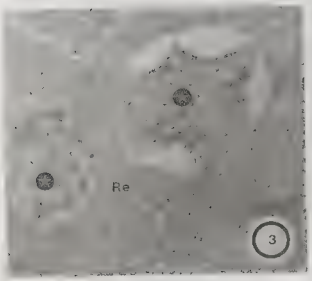
JENKINS, H.L. 1955 - Digestive system of *Littorina littorea* L.M. Sc.Thesis, University of wales. In Graham (1962).

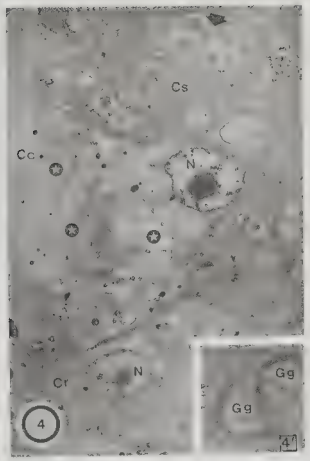
MANSOUR-BEK J.J., 1934 - Uber die proteolytischen enzyme Von *Murex anguliferns* LMK. *J.Micros.Soc.*, 104 : 23-38.

REYNOLDS E.S., 1963 - Contraste des coupes fines au citrate de plomb. *J.Cell Biol.*, 17 : 108-212.


Tc
L
L
1


2


Re
3


Cs
Cc
N
Cr
N
4

Gg
Gg
4'

Re
En
N
Nu
Cy
5

N°	ENZYME RECHERCHEE	SUBSTRAT	pH	REACTION
1	Témoin			
2	Phosphatase alkaline	2-naphtyl phosphate	8,5	5
3	Esterase (C4)	2-naphtyl butyrate	6,5	1
4	Esterase Lipase (C8)	2-naphtyl caprylate	7,5	3
5	Lipase (C14)	2-naphtyl myristate	"	0
6	Leucine Aminopeptidase	L-leucyl-2-naphtylamide	"	5
7	Valine Aminopeptidase	L-valyl-2-naphtylamide	"	5
8	Cystine Aminopeptidase	L-cystyl-2-naphtylamide	"	1
9	Trypsine	N-benzoyl-DL-arginine-2-naphtylamide	8,5	0
10	Chymotrypsine	N-glutaryl-phenyl-alanine-2-naphtylamide	7,5	0
11	Phosphatase acide	2-naphtyl phosphate	5,4	5
12	Phosphoamidase	Naphtol-AS-BI-phospho-diamide	"	5
13	galactosidase	6-Br-2-naphtyl- D-galactopyranoside	"	0
14	galactosidase	2-naphtyl- D-galacto-pyranoside	"	4
15	glucuronidase	Naphtol-AS-BI- D-glucu-ronate	"	5
16	glucosidase	2-naphtyl- D-glucopyra-noside	"	3
17	glucosidase	6-Br-2-naphtyl- D-gluco-pyranoside	"	Tr*
18	N-acétyl-glucosaminidase	1-naphtyl-N-acetyl- D-glucosaminide	"	5
19	mannosidase	6-Br-2-naphtyl- D mannopyranoside	"	2
20	fucosidase	2-naphtyl- l-fucopyranoside	"	4

Tableau 1 : Résultats des réactions Api-Zym

La note 0 correspond à une activité négative
La note 1 correspond à une activité de 5 nM de Naphtol
La note 2 correspond à une activité de 10 nM de Naphtol
La note 3 correspond à une activité de 20 nM de Naphtol
La note 4 correspond à une activité de 30 nM de Naphtol
La note 5 correspond à une activité de 40 à 50 nM de Naphtol ou plus
Tr* = trace

Société Française de Malacologie
ASPECTS RÉCENTS DE LA BIOLOGIE DES MOLLUSQUES
Ifremer, Actes de Colloques, no. 13, 1992, p. 113-124

11

RECHERCHES ECOPHYSIOLOGIQUES SUR L'ESCARGOT PETIT-GRIS (*HELIX ASPERSA* MÜLLER) EN VUE DE SON ELEVAGE

DAGUZAN J.

Laboratoire de Zoologie et d'Ecophysiologie (L.A.INRA), Université de Rennes I, Campus de Beaulieu, 35042 RENNES Cédex

RESUME : L'élevage de l'escargot Petit-gris selon la technique "mixte" de l'héliciculture est actuellement possible, mais plusieurs problèmes restent cependant posés si l'on veut que cette production soit rentable. Ainsi, un tri sélectif effectué au niveau de la taille des individus au moment du chargement des parcs d'engraissement semble être néfaste. L'engraissement en parcs extérieurs, doit s'effectuer entre le mois d'avril et le début de juin, les escargots adultes "bordés", donc commercialisables, étant obtenus entre la mi-juin et la fin août, avec un maximum du 15 juillet au 15 août. Les jeunes escargots peuvent être placés dans les parcs dès l'âge de 14 jours jusqu'à celui de 6 semaines, et ceci en une ou plusieurs fois, à condition que le temps qui s'écoule entre l'introduction de deux lots consécutifs soit court (8 jours) ou assez long (1 mois). Enfin, pour la phase "engraissement" réalisée en parc extérieur, il semble qu'une charge biotique initiale de 50g d'escargots âgés de 3 semaines à 1 mois par m^2 au sol (soit 400 individus/m^2) soit optimale pour ce type de structure.

Mots clés : taille, âge, densité, engraissement, *Helix aspersa*

ECOPHYSIOLOGICAL STUDIES ON THE BROWN GARDEN SNAIL (*HELIX ASPERSA* MÜLLER)

***ABSTRACT** : Mixed rearing of brown garden snails is now possible, but several problems remain to make this production profitable. Thus, a trial executed on the size of individuals just when the external rearing parks are stocked, is not necessary. Fattening in parks must be realized between April and June for the adult snails which can be obtained from mid-June to the end of August, with a maximum from mid-June to mid-August. Young snails may be put into external rearing parks as soon as they are 14 days old down to that of 6 weeks, and in once or several times, on condition that time which passes between two snails lots is short (8 days) or long enough (1 month). In last, for fattening phase realized in external parks, a biotic load of 50g of 3 weeks to 1 month old snails (i.e. 400 individuals per m^2) seems to be optimum for this type of fattening.*

Keywords : size, age, density, fattening, *Helix aspersa*

INTRODUCTION.

L'élevage de l'escargot Petit-gris selon la technique "mixte" de l'héliciculture (reproduction et nursery en bâtiment contrôlé durant l'hiver ; engraissement en par extérieur d'Avril à Octobre) est possible (DAGUZAN, 1981,1985).

Cependant, chez les Gastéropodes Pulmonés terrestres, les facteurs abiotiques (climatiques, nutritionnels) ou biotiques (âge, densité, génétique) conditionnent très largement la croissance, et des arrêts de croissance peuvent apparaître quand les conditions deviennent défavorables (LAMOTTE, 1951 ; WOLDA, 1963, 1972, 1973 ; POTTS, 1972 ; POLLARD, 1973, 1975 ; WILLIAMSON, 1976 ; POLLARD et all., 1977 ; ; LAZARIDOU-DIMITRIADOU, 1978 ; CHARRIER, 1981 ; DAGUZAN, 1985).

Il nous a donc paru intéressant de voir si la taille initiale des jeunes individus placés en parc, la date de leur mise en engraissement, leur âge initial et la charge biotique avaient une importance sur la croissance des escargots et donc, par conséquent, sur le nombre d'individus commercialisables obtenus au bout de 6 mois selon cette technique hélicicole.

MATERIEL ET METHODES

1. Caractéristiques des parcs extérieurs d'engraissement à escargots.

Ce sont des parcs rectangulaires assez étroits (6,50m x 1,20m) dont la structure et l'aménagement ont déjà été décrits (DAGUZAN, 1983,1985) (Fig.1). Afin de maintenir une certaine humidité (Hr 60%) à l'intérieur des parcs et d'éviter l'estivation des escargots durant les fortes chaleurs estivales, un arrosage automatique est assuré à l'aide de diverses buses placées au-dessous des chassis. Cette opération a lieu deux fois par jour : de 15h à 15h30 et de 20h30 à 21h. Au cours des journées estivales très chaudes de Juillet et d'Août, on effectue un arrosage supplémentaire de 11h à 11h30.

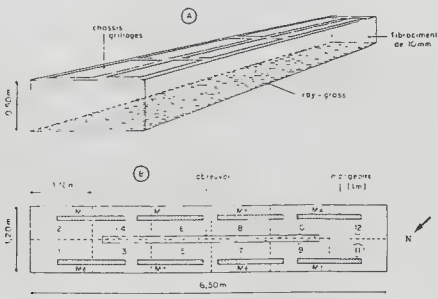


Fig. 1 - Parc extérieur d'engraissement à escargots.
A : vue extérieure; B : disposition interne avec mangeoires, abris et abreuvoirs (les carrés 1 à 12 correspondent aux échantillons effectués pour l'étude)

2. Alimentation.

La nourriture fournie aux escargots est de l'aliment composé, sous forme de poudre, placé dans les mangeoires et renfermant 11,8 % de matière azotée; 2,5 % de cellulose et 36,6 % de matières minérales.

3. Diverses phases de l'élevage "mixte".

Il est bon de rappeler que ce type d'héliciculture comporte diverses phases que nous avons déjà exposées (DAGUZAN, 1981, 1985, 1989).

Réveil des escargots reproducteurs (10 jours) mis au préalable en hibernation durant 3 mois dans une chambre froide à 4°C, soumise à une photopériode artificielle de 8h de photophase et 16h de scotophase ;

Conditionnement des géniteurs (6 semaines) dans un local "reproduction" (20°C ; 75 à 95 % Hr ; 18 h de photophase et 6 h de scotophase) ;

Reproduction (8 semaines).

Eclosion des nouveau-nés et croissance des "jeunes 1" (1 mois environ) dans un local "nursery" (20°C ; 75 à 95 % Hr ; 12h de photophase et 12h de scotophase) (DAGUZAN, 1982);

Engraissement en parc extérieur (d'Avril à Octobre) : les jeunes escargots sortant du bâtiment "nursery" et âgés de 14 à 42 jours sont alors triés ou non, et placés dans les parcs en les dispersant de façon régulière au départ.

4. Conditions climatiques ambiantes durant l'engraissement des jeunes escargots réalisé en parcs extérieurs.

On note que durant les périodes d'études réalisées de 1983 à 1989, d'Avril à Octobre, la température minimale oscille entre 4°C et 20°C, tandis que la température maximale varie de 15°C à 34°C (Fig.2).

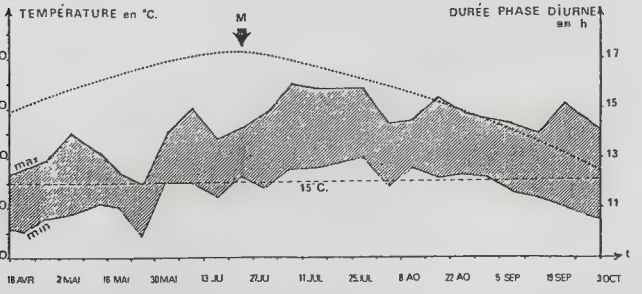


Fig. 2 - Variations des températures maximale et minimale, et de la durée de la phase diurne au cours de la période d'étude de 1983 (22.04 au 30.10)

En ce qui concerne la photopériode, elle augmente sans cesse pour atteindre un maximum le 21 Juin (jour : 17h ; nuit : 7h), puis diminue pour n'être que de 12h30 de jour et de 11h30 de nuit début Octobre.

Enfin, grâce au système d'arrosage que nous utilisons, l'hygrométrie à l'intérieur des parcs oscille entre 60 et 100° Hr.

5. Charge biotique des parcs.

Elle varie du 34,6 g/m² au sol (2 000 individus/parc) à 250,8 g/m² au sol (48 000 individus/parc).

6. Mesures effectuées et échantillonnage.

A la mise en engraissement des jeunes escargots, les individus sont comptés réellement et pesés individuellement.

Tous les 15 jours, on suit l'évolution des populations d'escargots des différents parcs, en pesant individuellement 500 individus pris au hasard dans chaque parc.

Chaque semaine, les escargots "bordés", donc adultes, et de taille commerciale, sont retirés des parcs, dénombrés et pesés.

Enfin, à la fin de la période d'engraissement en parc (début Octobre), tous les escargots sont retirés, comptés et pesés, afin d'évaluer la mortalité, la production et la composition des diverses populations.

RESULTATS ET DISCUSSIONS.

I - Taux de mortalité.

Pour la période d'engraissement en parcs extérieurs, la mortalité des escargots oscille de 9,7 à 69,3 %, avec une moyenne de 34 %. De plus, la mortalité occasionnée lors de la manoeuvre des chassis, par l'écrasement de certains escargots, est de l'ordre de 2 % environ, valeur non négligeable.

Cette grande variation de la mortalité est due à plusieurs facteurs que nous allons essayé d'analyser.

2. Importance de la taille des jeunes escargots à leur mise en engraissement en parc extérieur.

Les résultats obtenus montrent qu'il n'est pas nécessaire d'effectuer un tri des individus selon leur taille à la mise en parc d'engraissement (Tabl.1). Au contraire, il semble

même que la population d'escargots non triés montre un effectif bien plus élevé d'individus "bordés", donc adultes (58,6%) et les plus gros par rapport à ceux obtenus dans les divers parcs. Enfin, que les escargots soient triés ou non, les premiers individus "bordés" sont obtenus pratiquement aux mêmes dates.

Tableau 1 - Principaux résultats obtenus concernant des populations d'escargots Helix aspersa (Müller) engraissés en parcs extérieurs, de Mai-Juin à Octobre 1983, en fonction du tri effectué ou non à la mise en parc (31/5/83 : 6.000 individus/parc).

Paramètres \ Parcs	P_1	P_2	P_3
Age des escargots à la mise en parc	6 semaines	6 semaines	6 semaines
Composition de la population d'escargots	Individus non triés	Individus D 6 mm	Individus D 6 mm
Effectif :			
- au 31.5.83	6 000	6 000	6 000
- au 3.10.83	3 153	3 458	3 337
Biomasse en g :			
- au 31.5.83	603.6	557.0	2 715.0
- au 3.10.83	22 609.0	14 275.4	16 063,1
Poids moyen des escargots :			
- au 31.5.83	100,6 mg	92,8 mg	452,5 mg
- au 3.10.83	7,17 g	4,11 g	4,80 g
Coefficient de variation (%) :			
- au 31.5.83	102	141	65
- au 3.10.83	36	46	49
Mortalité en %	47,5	42,3	44,3
Individus "bordés"	1.848 (58,6 %) $\bar{P}$ = 8,60 g	713 (20,6 %) $\bar{P}$ = 6,90 g	1 153 (34,6 %) $\bar{P}$ = 7,00 g
Individus petits (D < 15 mm)	74 (2,4 %) $\bar{P}$ = 2,90 g	474 (13,7 %) $\bar{P}$ 1,60 g	438 (13,1 %) $\bar{P}$ = 1,70 g
Date d'obtention des premiers escargots "bordés"	20.6.83	27.6.83	20.6.83

3. Importance de la date de mise en parc de jeunes escargots pour leur engraissement.

Selon cette étude, il s'avère très nettement qu'il est conseillé de placer les jeunes escargots dans les parcs d'engraissement entre le début du mois d'Avril et la fin du mois de Mai (Tabl.2).

Passée cette période, il est possible d'obtenir des escargots commercialisables en Octobre, mais la phase d'engraissement étant trop courte, leur effectif est beaucoup plus faible et de nombreux individus (12%) restent très petits (D < 15mm).

Tableau 2. Principaux résultats obtenus concernant des populations d'escargots (Helix aspersa Müller) engraissés en parcs extérieurs en fonction de la date de leur mise engraissement (6 000 individus/parc).

Parcs / Paramètres	P_4	P_5	P_6	P_7
Age des escargots à la mise en parc	14 jours	14 jours	14 jours	14 jours
Date de la mise en parc	22.4.83	3.5.83	10.5.83	6.7.83
Effectif :				
-initial	6.000	6.000	6.000	6.000
-au 3.10.83	3.976	3.820	3.153	3.833
Biomasse en g :				
- initiale	339,3	291,1	254,3	378,0
- au 3.10.83	22.346,1	21.352,0	22.609,0	17.515,1
Poids moyen des escargots				
- initial	56,6 mg	48,5 mg	42,4 mg	63,0 mg
- au 3.10.83	5,62 g	5,60 g	7,17 g	4,60 g
Coefficient de variations (%) :				
- initial	124	101	102	69
- au 3.10.83	30	40	36	54
Mortalité en %	33,7	36,3	47,5	36,1
Individus "bordés"	1.571 (39,5 %) $\bar{P}$ = 8,03 g	1.548 (40,5%) $\bar{P}$ = 7,60 g	1.848 (58,6 %) $\bar{P}$ = 8,60 g	542 (14,1 %) $\bar{P}$ = 7,80 g
Individus petits (D < 15 mm)	55 (1,4 %) $\bar{P}$ = 1,67 g	247 (6,5 %) $\bar{P}$ = 2,70 g	74 (2,4 %) $\bar{P}$ = 2,90 g	458 (12,0 %) $\bar{P}$ = 1,90 g
Date d'obtention des premiers escargots "bordés"	13.6.83 (âge : 66 j)	20.6.83 (âge : 62 j)	20.6.83 (âge : 55 j)	22.8.83 (âge : 61 j)

4. Importance du chargement des parcs extérieurs en une ou plusieurs fois et du temps s'écoulant entre les divers apports d'escargots.

Il semble que le chargement d'un parc en plusieurs fois, à l'aide de jeunes escargots âgés de 1 mois et sortant du bâtiment "nursery", soit possible, à condition que le temps qui s'écoule entre les mises en place des divers lots soit court (8 jours) ou assez long (1 mois) (Fig.3).

Par contre, une durée intermédiaire de 12 à 15 jours entraîne une mortalité plus élevée, des retards de croissance, une hétérogénéité de tailles et une production d'escargots "bordés" irrégulière.

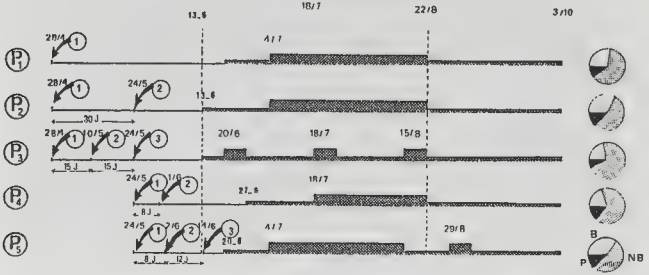


Fig. 3 - Diagramme illustrant les principaux résultats obtenus pour la phase "engraissement en parcs extérieurs" du 28 Avril au 3 Octobre 1983 (n = 6 000 escargots/parcs ; âge : 21 jours). (P : petits individus,D< 15mm ; N.B. : "non bordés",D >15mm ; B : "individus bordés" ; la largeur de la bande en grisé est proportionnelle à l'effectif des escargots "bordés" ; flèches : chargement des divers lots).

5. Importance de l'âge des jeunes escargots à leur mise en engraissement en parc extérieur.

Quel que soit le parc considéré, donc l'âge des jeunes escargots à leur mise en engraissement, on note que la production est élevée (23 à 25 kg d'escargots/parcs), soit 2,9 à 3,2 kg/m².

Si l'on tient compte du nombre d'escargots commercialisables : "bordés" + "non bordés" (D ≥ 15mm) que l'on obtient à la fin de la phase engraissement en parc extérieur, il est conseillé de placer dans ces parcs des individus âgés de 21 à 28 jours.

6. Importance de la charge biotique pour la phase "engraissement" réalisée en parc extérieur.

On constate tout d'abord que plus l'effectif des parcs est important, plus la vitesse de croissance est faible et plus l'hétérogénéité de poids ou de taille est grande (Tabl. 4).

Tableau 3 - Principaux résultats obtenus concernant des populations d'escargots (Helix aspersa Muller) engraissés en parcs extérieurs en fonction de l'âge des jeunes individus à leur mise en parc (15.05.85 : 3.000 individus/parc).

Parcs / Paramètres	P_1	P_2	P_3	P_4
Age des escargots à la mise en parc	7 jours	14 jours	21 jours	28 jours
Biomasse en g : 14.5.85 -au 1.10.85	 155 22.993	 157 23.479	 298 24.694	 367 25.232
Poids moyen des escargots -au 14.5.85 -au 1.10.85	 52 mg 9,30 g	 53 mg 10,22 g	 99 mg 9,72 g	 122 mg 9,31 g
Mortalité en % :	17,4	23,4	15,3	9,7
Individus "bordés" (%)	69,3 ($\bar{P}$ = 10,40 g)	79,6 ($\bar{P}$ = 10,80 g)	82,6 ($\bar{P}$ = 10,50 g)	72,0 ($\bar{P}$ = 10,50g)
Individus non "bordés" (D > 15 mm)	25,3 % ($\bar{P}$ = 7,30 g)	20,4 % ($\bar{P}$ = 8,00 g)	17,4 % ($\bar{P}$ = 6,20 g)	28,0 % ($\bar{P}$ = 6,40g)
Individus petits (D < 15 mm)	5,4 % ($\bar{P}$ =4,60g)	0,0 %	0,0 %	0,0 %
Date d'obtention des premiers escargots "bordés"	29.7.85	15.7.85	15.7.85	15.7.85

Tableau 4 - Principaux résultats obtenus concernant des populations d'escargots (Helix aspersa Müller) engraissés en parcs extérieurs, depuis l'âge de 1 mois jusqu'à celui de 6 mois, en fonction de la charge biotique.

Parcs / Paramètres	P_1	P_2	P_3	P_4	P_5	P_6	P_7	P_8
Effectif par parc	2.000	3 000	4.000	5 000	6.000	12 000	24.000	48 000
Densité au m2 de sol	256	385	512	641	770	1 540	3 080	6 160
Charge biotique /m2 de sol	34,6 g	45,9 g	62,1 g	67,9 g	77,0 g	83,5 g	162,1 g	250,8 g
Biomasse à t = 6 mois (en g)	17 437	24 397	23 948	22 978	24 172	23 811	27.767	24 459
Mortalité (en %)	12,9	17,6	22,5	35,0	37,8	42,8	54,8	69,3
Coefficient de variation à t = 6 mois (en %)	37	38	52	46	40	51	62	71
Individus "bordés"	91,8 % P = 10 40 g	89,4 % P = 10,30 g	85,0 % P = 9,38 g	34,1 % P = 8,38 g	21,4 % P = 8,34 g	15,5 % P = 8,28 g	8,0 % P = 7,78 g	2,9 % P = 7 23 g
Individus petits (D<15mm)	0 %	1,24	22 01	31,0 %	33 8 %	38,5 %	74,5 %	79,9 %
Durée d'engraissement nécessaire pour obtenir les premiers escargots "bordés"	84 j (Age : 144 j)	84j (Age : 114j)	94 j (Age : 124j)	94 j (Age : 124j)	96 j (Age : 126j)	96 j (Age : 126j)	96 j (Age : 126j)	125 j (Age : 155j)

De plus, quel que soit le parc considéré, les biomasses finales obtenues sont très proches (de 22,9 kg à 27,8 kg), sauf pour le parc P_1 où la production est plus faible (14,4kg

Le nombre d'individus "bordés" est inversement proportionnel à l'effectif d'escargots présents dans le parc d'engraissement, tandis que le nombre de petits ($D < 15mm$) y est proportionnel.

En outre, quel que soit l'effectif des parcs, les premiers escargots "bordés" sont obtenus en général à la même date (1ère quinzaine de juillet) et leurs poids moyens varient de 7,23 à 10,40 g.

Enfin, la consommation moyenne d'aliment composé est indépendante de l'effectif des parcs ; elle oscille entre 256 g et 300 g par jour et par parc.

Bien que le nombre d'escargots "bordés" soit plus élevé dans le parc P_1 (91,8 %) que dans le parc P_2 (89,4%), la production est plus faible (17.437 g au lieu de 24 397 g) ; un effectif de 3.000 escargots par parc (soit environ 385 individus/m²) semble être optimal.

Cette étude met bien en évidence les notions d'effet de groupe et d'effet de masse définies par GRASSE et CHAUVIN (1944). On peut penser que les modifications observées sont dues à un effet de masse qui apparaît dès que la densité dans les parcs est supérieure à 400 individus/m². Ce phénomène se traduit par une diminution de la vitesse de croissance, une mortalité plus élevée et une réduction du poids acquis par les escargots au bout de 6 mois, ce qui est en accord avec les résultats de LAZARIDOU-DIMITRIADOU et DAGUZAN (1981) chez le Pulmoné dunicole : Theba pisana (Müller) et par CHARRIER (1981),LUCARZ (1982), DAGUZAN (1985) chez l'escargot Petit-gris (Helix aspersa).

CONCLUSION

A la suite de cette étude, il est possible d'établir certaines conclusions fort utiles pour le développement de l'hélériculture :

* L'engraissement en parcs extérieurs, pour être rentable, doit s'effectuer entre le mois d'avril et le début du mois de juin ;
* Les escargots "bordés" commercialisables sont obtenus entre la mi-Juin et la fin Août, avec un maximum du 15 Juillet au 15 Août ;
* Un tri sélectif effectué au niveau de la taille des individus, au moment du chargement des parcs, n'est pas nécessaire et semble même très néfaste ;
* Les jeunes escargots peuvent être placés dans les parcs dès l'âge de 14 jours jusqu'à celui de 6 semaines ;
* Il est possible de placer les jeunes escargots dans chaque parc d'engraissement en une ou plusieurs fois, à condition que le temps qui s'écoule entre les introductions des lots successifs soit court (8 jours) ou assez long (1 mois) ;
* Plus l'effectif des parcs est important, plus la vitesse de croissance des escargots est faible,plus la mortalité est élevée et plus l'effectif d'individus "bordés" est faible.

Ainsi, cette étude permet de se rendre compte de l'importance des relations intraspécifiques qui s'exercent entre les divers escargots d'une même population. Actuellement, les conditions optimales d'engraissement en parc extérieur sont les suivantes : 3.000 individus âgés de 21 à 28 jours/parc (400 escargots/m² ou 50 g d'escargots/m²) placés, en une ou

plusieurs fois, d'avril à début juin, et non triés initialement. Dans ce cas, il est possible d'obtenir, en 5 mois d'engraissement, une production d'environ 24 kg d'escargots par parc (soit 3 kg/m² comportant un effectif d'environ 89 % d'escargots "bordés" commercialisables (poids moyen de 10,3 g), la mortalité au cours de cette phase d'engraissement n'étant que de 17 % environ.

Enfin, s'il est possible d'affirmer que l'héliciculture selon la technique "mixte" est actuellement bien au point, il reste encore cependant certains problèmes à résoudre ou à affiner comme celui de la **production de géniteurs performants.**

CHARRIER, M., 1981.- Contribution à l'étude des effets du groupement sur la croissance de l'escargot Petit-gris, Helix aspersa Müller (Gastéropode Pulmoné Stylommatophore).
Arch. Zool. exp. gén., 122 : 29-38.

DAGUZAN, J., 1981.- Contribution à l'élevage de l'escargot Petit-gris, Helix aspersa Müller (Mollusque Gastéropode Pulmoné Stylommatophore). I. Reproduction et éclosion des jeunes en bâtiment et en conditions thermohygrométriques contrôlées.
Ann. Zootechn., 30 : 249-272.

DAGUZAN, J., 1982.- Contribution à l'élevage de l'escargot Petit-gris, Helix aspersa Müller (Mollusque Gastéropode Pulmoné Stylommatophore). II. Evolution de la population juvénile de l'éclosion à l'âge de 12 semaine, en bâtiment et en conditions d'élevage contrôlées.
Ann. Zootechn., 31 : 87-110.

DAGUZAN, J., 1983.- L'escargot et l'héliciculture.
Informations techniques des Services Vétérinaires, Paris, 207 p.

DAGUZAN, J., 1985.- Contribution à l'élevage de l'escargot Petit-gris, (Helix aspersa Müller (Mollusque Gastéropode Pulmoné Stylommatophore). III. Elevage mixte (reproduction en bâtiment contrôlé et engraissement en parc extérieur) : activité des individus et évolution de la population juvénile selon la charge biotique du parc.
Ann. Zootechn., 34 (2) : 127-148.

DAGUZAN, J., 1989.- L'élevage de l'escargot ou Héliciculture, en France : état actuel et perspectives.
Haliotis, 19 : 165-175.

GRASSE, P.P., CHAUVIN, R., 1944.- L'effet de groupe et la survie des neutres dans les sociétés d'Insectes.
Rev. Scient.,

LAMOTTE, M., 1951.- Recherche sur la structure génétique des populations naturelles de Cepaea nemoralis.
Bull. Biol., Fr., 35 : 1-239.

LAZARIDOU-DIMITRIADOU, M., 1978.- Contribution à l'écophysiologie d'un Gastéropode Pulmoné dunicole Euparypha pisana (Müller) du littoral armoricain.
Thèse Doct. 3è cycle, Université de RENNES 1, 279 pages.

LAZARIDOU-DIMITRIADOU, M., DAGUZAN, J., 1981.- Etude de l'effet du groupement des individus chez Theba pisana (Mollusque Gastéropode Pulmoné Stylommatophore).
Malacologia, 20 : 195-204.

LUCARZ, A., 1962.- Effet de groupement sur la croissance pondérale d'escargots Helix aspersa Muller.
C. R. Acad. Sci., Paris, 294 : 753-756.

POLLARD, E., 1973.- Growth classes in the adult Roman snail (Helix pomatia L.).
Oecologia, 12 : 209-212.

POLLARD, E., COOKE, A.S., WELCH, J.M., 1977.- The use of shell features in age determination of juvenile and adult Roman snails Helix pomatia L..
J. Zool., 183 : 269-279.

POTTS, D.C., 1972.- Population ecology of Helix pomatia and the nature of selection in favorable and unfavorable environments.
Ph. D. Thesis, University of California, Santa-Barbara, 210 p.

WOLDA, H., 1963.- Natural populations of the polymorphic landsnail Cepaea nemoralis L.
Arch. Neerl. Zool., 15 : 381-471.

WOLDA, H., 1972.- Ecology of some experimental populations of the landsnail Cepae nemoralis L. I. Adult numbers and adult mortality.
Neth. J. Zool., 22 : 428-455.

WOLDA, H., 1973.- Changes in shell size in some experimental populations of the landsnail Cepaea nemoralis L.
Argamon Isr. J. Malacol., 3 : 63-71.

Société Française de Malacologie
ASPECTS RÉCENTS DE LA BIOLOGIE DES MOLLUSQUES
Ifremer, Actes de Colloques, no. 13, 1992, p. 125-134

12

DONNEES SUR LES GASTEROPODES DULCICOLES DE L'OUEST DE LA FRANCE : MISE EN EVIDENCE DE CINQ GROUPES D'ESPECES

COSTIL-FLEURY K.

Laboratoire de Zoologie générale et Ecophysiologie (L.A.INRA), Université de Rennes I, Campus de Beaulieu, Avenue du Général Leclerc, 35042 RENNES Cédex

RESUME : L'échantillonnage de 57 étangs de divers types, en Ille-et-Vilaine (Bretagne), a permis la récolte de 24 espèces de Gastéropodes représentant en tout 3 357 spécimens. Dans un premier temps, les espèces les plus fréqentes (dans au moins 10% des échantillons) font l'objet d'une étude quant à leurs abondance et dominance moyennes, ainsi qu'à la richesse spécifique moyenne des étangs dans lesquels on les récolte. Une seconde étape consiste à intégrer l'ensemble de ces descripteurs dans une analyse en composantes principales afin de visualiser la proximité des espèces dans le plan principal 1-2 (87% de la variance totale). L'ACP, associée à une classification ascendante hiérarchique, aboutit à la détermination de 5 types d'espèces.

Mots clés : gastéropodes, eau douce, fréquence, abondance, dominance, richesse, ACP

DATA ABOUT FRESHWATER GASTROPODA FROM THE WEST OF FRANCE : PARTITION IN 5 GROUPS OF SPECIES

***ABSTRACT** : 24 species of Gastropoda, representing 3 357 specimens, have been sampled in 57 varied ponds of Brittany (France). The most frequent species (at least in 10% of the samples) are considered according to their average abundance and dominance. The average specific richness of the ponds where the species have been collected is studied. In a second stage, the Gastropoda are analysed by means of a principal component analysis. The 1-2 plane correspond to 87% of the whole variance. This analysis associated with a cluster analysis lead to the partition of 5 groups of species.*

Keywords : gastropoda, freshwater, frequency, abundance, dominance, richness, principal component analysis

INTRODUCTION

Les données et leur traitement présentés ici constituent la première approche d'un travail plus vaste, prenant en compte les caractéristiques physico-chimiques des milieux étudiés. En effet, il nous est apparu interessant, avant toute étude strictement écologique, de nous focaliser sur les espèces afin de pouvoir les caractériser en apportant des éléments de réponse à des questions du type : Quelles sont les espèces fréquentes et les espèces rares? Quels sont les Gastéropodes dulcicoles caractéristiques des peuplements riches ou pauvres? Y sont ils abondamment représentés, dominants?

MATERIEL ET METHODES

1 L'échantillonnage

L'étude des malacocénoses d'eau douce, en Ille-et-Vilaine, n'a débuté qu'après de nombreuses prospections. Celles-ci nous ont permis de mieux connaître les milieux et les espèces pour ensuite effectuer les choix préalables à toute étude de terrain.

Nous avons opté pour 57 étangs de types variés dans lesquels nous avons délaissé les bivalves pour nous intéresser uniquement aux Gastéropodes. Ces derniers ont été prélevés dans la zone du plan d'eau la plus riche en escargots, à savoir le rivage, du bord de l'eau à une profondeur d'1,5 m environ. Ceci exclue naturellement de notre étude une espèce comme *Lymnaea truncatula* qui est plus terrestre qu'aquatique. L'appareil de prélèvement le plus polyvalent et le plus adapté à ce type de milieu, parfois pourvu d'une abondante végétation, reste le troubleau. Le notre est carré, de 50 cm de côté, avec une maille de 1 mm. Afin que l'échantillonnage soit comparable pour les différents plans d'eau, nous avons préféré un échantillonnage n'aboutissant pas à des densités mais à un nombre de Gastéropodes récoltés pour 3 mn. Celles-ci sont réparties en 6 fois 30 secondes ; l'ensemble des zones d'un étang est prospecté et ceci au *prorata* de ce qu'elles représentent quantitativement.

L'étude s'est déroulée en avril et début mai 88 . Cette période a été choisie suffisamment tard après la mauvaise saison, pour que tous les individus soient sortis de leur éventuelle "zone d'hibernation" (et qu'ils soient pleinemment actifs). Elle est également suffisamment tôt avant la bonne saison, afin qu'aucun nouveau-né, de quelque espèce que ce soit, ne soit trouvé dans les échantillons (et de sorte que les parents âgés ne soient pas encore morts après s'être reproduits). De plus, nous avons tenu à ce que cette période soit la plus brève possible.

2 Le traitement des données

Pour chaque espèce x, nous procédons au calcul de :

- La fréquence : $F = Px / 57$

Px = le nombre de fois que l'espèce x est rencontrée.

- L'abondance moyenne : $A = (\Sigma nx) / Px$

nx = le nombre d'individus de l'espèce x prélevés en 3 mn.

- La dominance moyenne : $D = \Sigma(nxy / Ny) / Px$

nxy = le nombre d'individus de l'espèce x dans l'étang y.

Ny = le nombre d'individus prélevés en 3 mn dans l'étang y.

- La richesse spécifique moyenne des étangs que l'espèce x peuple : $R = (\Sigma Ry) / Px$.

Ry = le nombre d'espèces, y compris l'espèce x, présentes dans l'étang y.

Associant à l'ensemble des 13 espèces les 4 descripteurs décrits ci-dessus, il ne nous est pas possible de représenter géométriquement les espèces sous la forme d'un nuage de points. Ainsi, nous avons recours à l'analyse factorielle qui permet de représenter de façon optimale, dans un espace de dimension réduite, l'ensemble de la variabilité de la matrice multidimensionnelle des

données. Aucun recodage particulier ne s'imposant, le tableau des valeurs brutes (tab II) est utilisé tel quel comme matrice des données. Les descripteurs prennent des valeurs quantitatives et présentent entre eux des coefficients de corrélation non nuls. Ceci nous amène à choisir comme analyse factorielle l'analyse en composantes principales (ACP).

Après avoir mesurer la ressemblance entre les espèces par une méthode d'ordination (ACP), nous retenons en complément une méthode de groupement, la classification ascendante hiérarchique (CAH). La CAH (distance euclidienne, agrégation par la moyenne des distances pondérées) regroupe en classes les espèces à partir de leurs coordonnées sur les 2 premiers axes de l'ACP. Nous utilisons les programmes de statistique du logiciel STATITCF (1987) installé sur IBM.

RESULTATS

1 INVENTAIRE DES GASTEROPODES RECOLTES

24 espèces de Gastéropodes ont été récoltéesdans l'ensemble des 57 étangs (tab I). Parmi elles, nous relevons la présence de 5 Prosobranches, tandis que les Pulmonés se répartissent ainsi : 11 *Planorbidae*, 5 *Lymnaeidae* et 3 *Physidae*.

Tableau I

Inventaire des Gastéropodes dans 57 étangs d'Ille-et-Vilaine.

Infra-Classe	Familles	Espèces	Fréquence (%)
PULMONATA	*LYMNAEIDAE*	*Lymnaea peregra* (Müller)	89,47
		Lymnaea palustris (Müller)	42,10
		Lymnaea glabra (Müller)	28,07
		Lymnaea stagnalis (L.)	14,04
		Lymnaea auricularia (L.)	7,02
	PHYSIDAE	*Physa acuta* (Draparnaud)	56,14
		Physa fontinalis (L.)	3,51
		Aplexa hypnorum (L.)	3,51
	PLANORBIDAE	*Gyraulus albus* (Müller)	47,37
		Anisus spirorbis (L.)	17,54
		Planorbarius corneus (L.)	15,79
		Planorbis planorbis (L.)	15,79
		Bathyomphalus contortus (L.)	14,04
		Segmentina nitida (Müller)	10,53
		Hippeutis complanatus (L.)	10,53
		Menetus dilatatus (Gould)	7,02
		Anisus vortex (L.)	3,51
		Anisus rotundatus (Poiret)	1,75
		Armiger crista (L.)	1,75
PROSOBRANCHIA	*BITHYNELLIDAE*	*Bythinia tentaculata* (L.)	19,29
		Bythinia leachi Sheppard	1,75
	VALVATIDAE	*Valvata cristata* Müller	5,26
		Valvata piscinalis Müller	1,75
	VIVIPARIDAE	*Viviparus viviparus* (L.)	3,51

2 CARACTERISTIQUES DES ESPECES

a La fréquence

Lymnaea peregra , récoltée 9 fois sur 10, est de loin l'espèce la plus fréquente (tab II). Elle est suivie par *Physa acuta* avec 56% puis par *Gyraulus albus* et *Lymnaea palustris* (respectivement 47 et 42%). La fréquence moyenne pour l'ensemble des 24 espèces s'établit à 17,54% (σ= 21,42). Ce pourcentage est inférieur à 10 pour 11 espèces dont 4 Prosobranches. Parmi ces derniers, c'est *Bithynia tentaculata* qui est trouvée le plus souvent, dans environ 1 étang sur 5. Dans le souci de ne point tirer de conclusions hatives, nous ne soumettons à l'analyse statistique suivante que les espèces récoltées dans au moins 10% des prélèvements.

b L'abondance

Des 3 357 Gastéropodes échantillonnés en tout 3 186 (94,91 %) concernent les 13 espèces les plus fréquentes. Cet effectif se répartit très différemment selon les espèces. Un peu plus du tiers est composé de *P. acuta* . *L. peregra*, la plus fréquente, est représentée par 483 individus (14,39 %); *B tentaculata* par 401 specimens (11,94 %).

Trois abondances moyennes se révèlent particulièrement élevées (tab. II). Il s'agît de celles de *Segmentina nitida, B. tentaculata* et *P. acuta*. Ces Mollusques doivent leur abondance moyenne très supérieure à la moyenne pour les 13 espèces (15,18 représentants d'une espèce par étang) à respectivement 1, 2 et 6 effectifs élevés. Les effectifs sont considérés comme élevés lorsqu'ils sont supérieurs à 50, mais ils peuvent aller bien au delà. (tab. III). L'impact de ces forts effectifs sur l'abondance moyenne est considérable puisqu'elle est multipliée par un facteur de 3,5, 4,5 et même 5 pour respectivement *P. acuta, B. tentaculata* et *S. nitida*. Nous sommes donc amenés à calculer des abondances moyennes "corrigées" où les effectifs élevés sont exclus. L'hétérogénéité est ainsi réduite et c'est alors pour *Planorbis planorbis* que l'abondance moyenne est la plus grande.

Tableau II

Caractéristiques des espèces présentes dans plus de 10 % des échantillons.

Espèces	Libellé	Fréquence	Abondance moyenne	Abondance moyenne "corrigée"	Dominance moyenne	Richesse spécifique moyenne
Lymnaea peregra	PER	89,47	9,47	8,28	29,73	4,41
Physa acuta	ACU	56,14	33,19	9,19	37,53	4,75
Gyraulus albus	ALB	47,37	9,67	9,67	23,71	5,33
Lymnaea palustris	PAL	42,10	7,75	7,75	19,01	5,58
Lymnaea glabra	GLA	28,07	6,43	6,43	17,94	5,19
Bythinia tentaculata	TEN	19,29	36,45	7,89	26,25	5,36
Anisus spirorbis	SPI	17,54	5,20	5,20	13,66	6,00
Planorbarius corneus	COR	15,79	8,89	8,89	19,45	6,55
Planorbis planorbis	PLA	15,79	18,44	18,44	24,98	6,11
Lymnaea stagnalis	STA	14,04	3,37	3,37	8,47	6,88
Bathyomphalus contortus	CON	14,04	6,87	6,87	7,87	6,25
Hippeutis complanatus	CON	10,53	9,50	9,50	27,09	5,50
Segmentina nitida	NIT	10,53	42,17	8,40	31,24	6,50
Moyenne (σ)	-	29,28(23,46)	15,18(13,19)	8,45(3,49)	22,07(8,78)	5,72(0,73)

Tableau III

Les fortes abondances

(+ 50 individus prélevés en 3mm)

Espèces	Nombre	% de fortes abondances	Les fortes abondances
Physa acuta	6	18,75 %	66-86-95-145-159-272
Bythinia tentaculata	2	18,18 %	74-256
Lymnaea peregra	1	1,96 %	69
Segmentina nitida	1	16,67 %	211

c La dominance

Les dominances moyennes calculées pour les 13 espèces les plus fréquentes varient de 7,9 à 37,5%. La richesse spécifique moyenne des 57 étangs s'élève à 4,21 espèces par étang. Si les 4,21 espèces de cet étang théorique possédaient un nombre équivalent d'individus la dominance serait de 23,75%. Nous qualifions de dominante d'une part et de dominée d'autre part, les espèces dont le pourcentage varie respectivement de +5 ou de -5% par rapport à ce chiffre (tab. IV). Trois espèces (*P.acuta, S. nitida* et *L. peregra*) dominent les autres Gastéropodes tandis que 4 espèces sont classées parmi les dominées. Entre ces extrêmes, les espèces se répartissent équitablement entre les peu dominantes et les peu dominées.

Tableau IV

Critères retenus pour qualifier les espèces.

	Très fréquente	Fréquente	Assez fréquente	Peu fréquente	Rare
Fréquence	> 80	50-80	20-50	10-20	< 10
	Moyenne	Très abondante	Abondante	Peu abondante	Très peu abondante
Abondance "corrigée"	8,45	>16,9	8,45-16,9	4,22-8,45	<4,22
	Moyenne	Dominante	Peu dominante	Peu dominée	Dominée
Dominance	22,07	> 27,07	22,07-27,07	17,07-22,07	<17,07
	Moyenne	Riche	Assez riche	Assez pauvre	Pauvre
Richesse spécifique	5,72	> 6,22	5,72-6,22	5,22-5,72	< 5,22

La dominance d'une espèce dans un plan d'eau donné reflète par définition l'effectif de cette espèce (r = 0,70) et dépend aussi, dans une moindre mesure, de la richesse spécifique de l'étang en question (r = - 0,58). Ainsi, la dominance de *L. peregra* ne trouve qu'une faible explication dans les forts effectifs. En fait, si cette espèce est dominante, c'est parce qu'elle est présente dans des étangs possédant relativement de faibles richesses spécifiques.

d La richesse spécifique moyenne des étangs que les espèces peuplent

Le nombre d'espèces récoltées en 3 mn varie de 1 à 10.Les étangs abritant *L. peregra* ont en moyenne la richesse spécifique la plus basse, soit 4,41 espèces par plan d'eau (tab II). Les Gastéropodes les plus fréquents sont récoltés dans les étangs possédant en général les richesses moyennes les plus basses (r = - 0,80) A l'opposé de *L. peregra* et *P. acuta*, nous trouvons *Planorbarius corneus* et *Lymnaea stagnalis* avec des richesses respectives de 6,55 et 6,88 espèces par plan d'eau. La moyenne pour les 13 Gastéropodes s'établit à 5,72 (σ= 0,73).

3 ORDINATION ET GROUPEMENT D'ESPECES

L'ACP fournit une image de la distribution des espèces dans le plan des 2 premiers axes qui représentent à eux seuls 87% de la variance totale (57,1 et 29,9%) (fig.1). La part prise par les descripteurs dans l'élaboration des axes est donnée par les corrélations avec les dits axes (tab V). En complément à l'ACP, la CAH appliquée aux espèces permet leur regroupement au sein de 5 groupes (dont le centre de gravité - G - est indiqué sur la fig. 1). Une simplification du tableau des valeurs brutes s'avère utile pour qualifier de façon simple les espèces (tab IV).

Détermination des groupes

- Groupe 1 : *L. peregra, P. acuta.* Il s'agît d'espèces fréquentes ou très fréquentes, de peuplements pauvres, plus ou moins abondantes mais dominantes.
- Groupe 3 : *L. stagnalis, B. contortus, A. spirorbis.*
Ces Gastéropodes sont peu fréquents, de peuplements riches dans lesquels ils sont peu représentés (ni abondants ni dominants).
- Groupe 4 : *P. corneus, H. complanatus, S. nitida.*
Nous n'avons pas fréquemment rencontré ces planorbes. Lorsque que nous les avons récoltés , ils faisaient partie de peuplements riches (*P. corneus, S. nitida*) ou pauvres (*H. complanatus*). Ce groupe est proche du groupe 3 mais s'en distingue par une nette tendance à l'abondance et / ou la dominance.
- Groupe 5 : *P. planorbis.*
Ce planorbe, peu fréquent et de peuplements assez riches, constitue à lui seul un groupe à cause de sa position extrême sur l'axe 2. Il est en effet caractérisé par une forte abondance (la plus forte) et une dominance assez grande.
- Groupe 2 : *L. glabra, L. palustris, G. albus, B. tentaculata.*
Ces Gastéropodes occupent une position centrale dans le plan 1-2. Il s'agît d' espèces intermédiaires vis à vis des descripteurs. A l'intérieur même de ce groupe certaines nuances se dégagent : *L glabra* qui fait partie de peuplements plus pauvres, où elle y est plus dominée, et la bythinie, moins fréquente que les 3 autres espèces mais qui domine davantage.

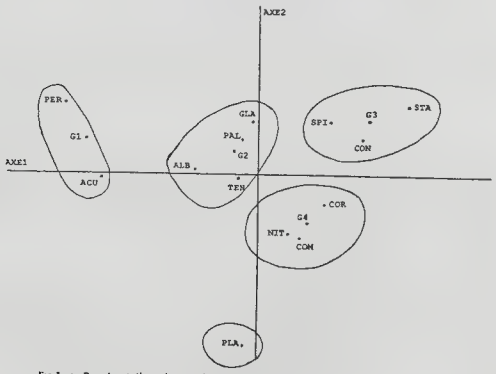


Fig.1 : Représentation des espèces de Gastéropodes dans le plan 1-2 de l'analyse en composantes principales.

Tableau V

Part prise par les variables dans l'élaboration des deux premiers axes (corrélation au carré)

Variables	Axe 1	Axe 2
Richesse spécifique	0,8174	0,0982
Fréquence	0,7601	0,1493
Dominance	0,5951	0,1782
Abondance corrigée	0,1128	0,7690

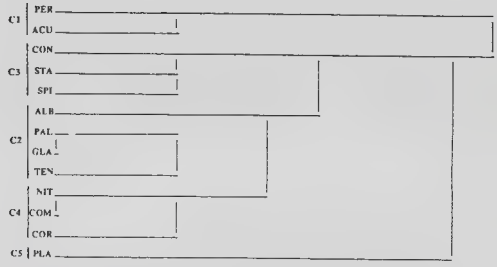


Fig. 2 : Arbre hiérarchique (C.A.H.) regroupant les espèces de Gastéropodes en 5 noyaux.

DISCUSSION-CONCLUSION

De nombreux travaux descriptifs de la malacofaune ont été effectués en France au XIX siècle. Ceux-ci ne sont pas toujours faciles d'utilisation car ils se basent sur une taxonomie multipliant le nombre des espèces et qui, depuis, a été simplifiée. En ce qui concerne la Bretagne, on peut se référer aux études de MABILLE (1866) dans la région de Dinan, DESMARS (1873) en Ille-et-Vilaine, ou encore BOURGUIGNAT (1860). Pour les Planorbes par exemple, ces auteurs répertorient les espèces suivantes : *P. corneus, B. contortus, A. crista, G. albus, A. rotundatus* et *A. vortex, S. nitida* et *H. complanatus*. Seul DESMARS (1873) a récolté des représentants de *P. planorbis* et d' *A. spirorbis*. Cependant, cette dernière espèce a souvent été confondue et mise en synonymie avec *A. rotundatus*. *Menetus dilatatus*, originaire d'Amérique du nord, a été vue pour la première fois près de Manchester en 1869.

Dans une étude plus récente, LUCAS (1967) dresse pour les eaux stagnantes de Loire Atlantique, un inventaire comparable au notre, à quelques exceptions près. Trois espèces apparaissent en plus : *Myxas glutinosa, Planorbis carinatus, Viviparus fasciatus*, toutes peu répandues et une espèce en moins : *Menetus dilatatus*. Selon cet auteur, les représentants des familles de Pulmonés les plus fréquents sont *P. planorbis, P. acuta* et *L. peregra*. Ces deux dernières espèces sont également les plus répandues en Ille-et-Vilaine, tandis que le planorbe le plus souvent rencontré est *G. albus*. *L. peregra* constitue pour beaucoup de Malacologistes français et européens, l'espèce la plus fréquente et la plus ubiquiste. *P. acuta* est qualifiée par MACAN (1950) d'espèce méditerranéenne et on lui attribue souvent une distribution préferentielle dans le midi de la France . Dans leur aire de répartition commune *P. fontinalis* et *P.acuta* sont vicariantes. Dans le sud de la France, seule *P. acuta* est représentée (MOUTHON 1981) . D'une manière générale, nous récoltons peu fréquemment des Prosobranches. *B tentaculata* est plus souvent rencontré que *B.laechi*, comme l'avait déjà constaté LUCAS (1967).

Les forts effectifs enregistrés pour 4 des 13 Gastéropodes entraînent , à l'exception de *L. peregra*, une augmentation très importante de l'abondance moyenne. L'ACP réalisée en utilisant l'abondance moyenne réelle fournit un plan principal où l'axe 1 est le plus corrélé à la dominance tandis que c'est l'abondance qui contribue le plus à l'élaboration de l'axe 2 (les coefficients de corrélation au carré sont respectivement de 0,7502 et 0,4754). Dans le regroupement des espèces, l'impact des forts effectifs est donc très grand et c'est la raison pour laquelle nous avons préféré les exclure. L'ACP effectuée avec les abondances corrigées permet alors une représentation des espèces dans le plan 1-2 plus équitable selon les différents descripteurs. Nous n'avons pas opéré l'exclusion des forts effectifs dans le calcul des dominances car l'augmentation de la dominance moyenne ne s'effectue que par un facteur de 1,6 au plus. Nous retiendrons tout de même que non moins de 211 *S. nitida*, 256 *B. tentaculata* et 272 *P. acuta* ont pu être récoltées en 3 mn !

L'examen de l'abondance " corrigée " fait apparaître - à part pour *L. stagnalis* et surtout *P. planorbis*- une grande homogenéité ; le nombre d'individus d'une espèce se situe en moyenne entre 5 et 10. Ces abondances sont vraissemblablement les plus basses que l'on puisse noter au cours de l'année puisque l'étude a été menée après l'hiver et avant la reproduction printanière générale aux Gastéropodes de nos régions. Ces valeurs sont bien loin de la densité moyenne sur l'année, calculée par MARAZANOFF (1969) en Camargue : 200 à 400 *Anisus rotundatus* par mètre carré. Par contre, les abondances moyennes établies par TUCKER (1958) pour 6 de nos 13 espèces sont soit du même ordre soit inférieures alors qu'elles correspondent à non pas 3 mn mais 1 heure d'échantillonnage.

Le coefficient de corrélation de Pearson entre l'abondance et la dominance passe de 0,70 à 0,47 lorsque l'on exclue les fortes abondances. La relative faiblesse de ce dernier coefficient reflète le cas des étangs où le nombre total d'individus prélevés et la richesse spécifique sont faibles. Ainsi, dans les 2 étangs où *L. peregra* est la seule espèce présente - avec donc une dominance de 100% - 2 et 3 individus seulement ont été échantillonnés !

Le nombre d'espèces des 57 étangs varie de 1 à 10, avec une moyenne de 5,72. Pour les plans d'eau canadiens inférieurs à 2 ha, cette moyenne s'établit à 3,8 espèces (PIP, 1986). En Grande Bretagne, MACAN (1950) récolte entre 1 et 8 espèces de Gastéropodes dans les 40 étangs prospectés. La moyenne est inférieure à 3. En Finlande, la richesse spécifique moyenne s'élève jusqu'à 10,5 (15 Gastéropodes prélevés au maximun) et varie selon les régions (AHO et col., 1981) . Cette variation (de 0,1 à 5,8) s'effectue également selon la trophie et la composition de l'eau (AHO, 1966)

Les espèces peuvent être classées en 2 types selon qu'elles font partie en moyenne de peuplements riches ou pauvres. Les espèces tolérantes ne sont pas rarement trouvées seules ou avec peu d'espèces compagnes et tendent à avoir une large distribution géographique : *L.peregra, P. albus, P. contortus* (BOYCOTT, 1936). " Par contre des espèces exigeantes comme le sont *P. corneus, L. auricularia* ou *B. laechi* vivent avec un certain nombre d'espèces et ont une distribution plus restreinte ". En Ille-et-Vilaine, *P. corneus, L. stagnalis* et *S. nitida* ne sont jamais trouvés en compagnie de moins de 4 espèces . Selon AHO et col.(1981), *L. stagnalis* peut être rencontrée dans des peuplements aussi bien riches que pauvres. Contrairement à ces derniers auteurs ainsi qu'à BOYCOTT (1936), nous classons *B. contortus* parmi les espèces de peuplements riches. *L. peregra* et *P. acuta* constituent les espèces les plus fréquentes et les plus ubiquistes de notre région. Leurs richesses spécifiques moyennes sont les plus faibles car elles peuvent supporter des conditions environnementales variées et notamment défavorables. La richesse moyenne de *L. glabra* est faible : 5,19 . BOYCOTT (1936) qualifie son habitat de spécialisé. La composition d'une communauté doit être le produit d'une combinaison spécifique des facteurs physico-chimiques et biotiques, caractéritiques d'un plan d'eau, lesquels illustrent les éventails de tolérance physiologique et les capacités de chaque espèces (PIP, 1986) .

Dans l'ACP le plan 1-2 rend compte de 87% de l'information totale contenue dans le tableau I qui, il est vrai, ne comporte que 4 descripteurs. Les 2 premières composantes en offre donc une image fidèle à laquelle on peut se fier. Cependant, la qualité de la représentation des espèces dans le plan principal est variable ; elle est assez faible pour *S. nitida* et surtout *B. tentaculata*. C'est la raison pour laquelle nous ne prenons pas en compte avec plus de rigueur les disparités existant au sein même des groupes représentés dans l'arbre hiérarchique. Néanmoins la troncature de la hiérarchie en 5 groupes semble être un bon compromis, illustant la réalité de terrain.

Remerciements : Nous tenons à remercier Mr J.L. FOULON, technicien au laboratoire, pour son efficace participation sur le terrain.

AHO J., 1966.Ecological basis of the distribution of the littoral freshwater molluscs in the vicinity of Tampere, South Finland. *Annales Zoologici Fennici*, 3 : 287-322.
AHO J., RANTA E., VUORINEN J., 1981.Species composition of freshwater snails communities in lakes of
southern and western Finland. *Annales Zoologici Fennici*, 18 (4) : 233-241.
BOURGUIGNAT J.B., 1860. Malacologie terrestre et fluviatile de la Bretagne. *Paris* in 8, 178 p.
BOYCOTT A.E., 1936. The habitats of the freshwater Mollusca in Britain. *J. Anim. Ecol.*, 5 : 116-186.
DESMARS J., 1873. Essai d'un catalogue méthodique et descriptif des Mollusques terrestres, fluviatiles et marins observés dans l'Ille et Vilaine. *Redon*. Tome 1 : 94 p.
LUCAS A., 1967. Les Gastéropodes des eaux douces et saumâtres de Loire Atlantique. *Bull. Sci. Nat. de l'Ouest de la France*. Tome LXIV : 3- 12.
MABILLE J., 1866. Etudes sur la faune malacologique de St Jean de Luz, de Dinan. *J. Conchyl.*, 14 : 12-31.
MACAN T.T., 1950. Ecology of freshwater Mollusca in the english lake District. *J. Anim. Ecol.*, 19 : 124-146.
MARAZANOFF F., 1969. Contribution à l'étude écologique des eaux douces et saumatres de Camargue. II. Anisus rotundatus (Poiret, 1801). *Annales de Limnologie*, 6 (2) : 191-213.
MOUTHON J., 1981. Typologie des Mollusques des eaux courantes. Organisation biotypologique et groupements socioécologiques. *Annales de Limnologie*, 17 (2) : 143-162.
PIP E., 1986. A study of pond colonization by freshwater Molluscs. *J. Mol. Stud.*, 52 : 214-224.
TUCKER D.S., 1958. The distribution of some freshwater invertebrates in ponds in relation to annual fluctuations in the chemical composition of the water. *J. Anim. Ecol.*, 27 : 105-123.

Société Française de Malacologie
ASPECTS RÉCENTS DE LA BIOLOGIE DES MOLLUSQUES
Ifremer, Actes de Colloques, no. 13, 1992, p. 135-146

13

DIVERGENCE GENETIQUE DE QUELQUES POPULATIONS NATURELLES DE *CEPAEA NEMORALIS* ET *CEPAEA HORTENSIS* EN FRANCE

GUILLER A. et MADEC L.

Laboratoire de Zoologie et d'Ecophysiologie (L.A.INRA). Université de Rennes I, Campus de Beaulieu, Avenue du Général Leclerc, 35042 RENNES Cédex France

RESUME : L'analyse électrophorétique de huit locus enzymatiques dans 23 colonies mixtes ou monospécifiques de *Cepaea nemoralis* et *Cepaea hortensis* fait apparaître d'importantes dissemblances génétiques entre les régions bretonne et pyrénéenne. La concordance entre les groupes de populations formés et les différentes zones latitudinales ou altitudinales analysées pourrait traduire l'influence de facteurs climatiques. Des effets fortuits de fondation semblent également intervenir dans la différenciation de certaines populations ; la très faible variabilité génétique de trois colonies pyrénéennes soumises probablement à de fréquentes extinctions en serait une conséquence. Les divergences relatives aux échantillons mixtes reflètent en revanche l'absence d'interactions entre les espèces jumelles.

Mots clés : génétique, populations naturelles, *Cepaea nemoralis, Cepaea hortensis*

GENETIC DIVERGENCE IN NATUREL POPULATIONS OF *CEPAEA NEMORALIS* AND *CEPAEA HORTENSIS* FROM FRANCE

***ABSTRACT** : Electrophoretic analysis of eight polymorphic loci in 23 mixed or monospecific populations of* Cepaea nemoralis *and* Cepaea hortensis *indicates important genetic dissimilarities between breton and pyrenean areas. The concordance between groups of samples and various latitudinal or altitudinal zones suggests that the influence of climatic factors could be involved. Founder effects also seem to increase the differentiation in some populations ; the lower genetic variability in three pyrenean samples probably submitted to frequent extinctions could illustrate this process. Nevertheless, divergences corresponding to plurispecific samples suppose the absence of interactions between the two species.*

Keywords : genetic, natural populations, *Cepaea nemoralis, Cepaea hortensis*

Introduction

Lors de l'étude du polymorphisme enzymatique d'une espèce, il est souvent très difficile de déterminer les parts respectives des effets sélectifs et des événements fortuits dans la variation géographique des fréquences alléliques. Le genre *Cepaea* n'échappe évidemment pas à cette règle comme le montrent les nombreux travaux qui lui ont été consacrés (Caugant et al., 1982 ; Valdez-Forsans, 1986 ; Kassem, 1987).

Dans ce travail préliminaire portant sur les espèces *Cepaea nemoralis* et *Cepaea hortensis*, nous avons d'une part, étudié la différenciation protéinique entre populations mixtes ou monospécifiques originaires de Bretagne et des Pyrénées et d'autre part, tenté de mettre à l'épreuve l'une des solutions susceptibles de résoudre le problème de cette détermination. En effet, *Cepaea nemoralis* et *Cepaea hortensis* étant des espèces jumelles, on peut penser a priori qu'elles présentent assez souvent le même polymorphisme. Il s'agit alors de considérer leurs covariations génétiques au sein d'un même habitat et, à l'échelle de l'aire de répartition, les modifications parallèles affectant leur polymorphisme biochimique.

Matériel et méthodes

Les échantillons, collectés sur des surfaces inférieures à 400 m^2, sont issus de populations provenant essentiellement de Bretagne et des Pyrénées (Figure 1, Tableau I). La technique utilisée pour l'étude génétique des populations de *Cepaea nemoralis* et *Cepaea hortensis*, respectivement au nombre de 18 et 5, est l'électrophorèse verticale sur gel de polyacrylamide. Huit locus polymorphes sont retenus : deux de leucine-aminopeptidase (LAP-1 et LAP-2), un des estérases (EST-1), un de phosphoglucose-isomérase (PGI-1), un de phosphoglucomutase (PGM-3), un de malate-deshydrogénase (MDH-1), un de glutamate-oxaloacétate-transaminase (GOT-1) et un de superoxydismutase (SOD-1).
La dissemblance génétique entre les populations a été appréhendée par le calcul de la distance de Nei (1972) et l'analyse factorielle des correspondances. Cette deuxième méthode, basée également sur les fréquences alléliques, précise la valeur des indices génétiques estimés en indiquant les locus ou allèles responsables des divergences enregistrées.

Fig.1 - Localisation géographique des 23 populations échantillonnées
(● *Cepaea nemoralis* ; △ *Cepaea hortensis* ; ▲ populations mixtes).

Tableau I

Caractéristiques des 23 populations échantillonnées (espèce, origine géographique, effectif)

Département	Population	Espèce	Effectif
SEINE-ET-OISE	St Leu-la-Forêt (LEU)	*C. hortensis*	40
ILLE-ET-VILAINE	Vezin-le-Coquet (RSV)	*C. nemoralis*	32
MORBIHAN	Lorient-Fort-Bloqué (LTF)	*C. nemoralis*	30
	Lorient-le Ter (LTT)	*C. nemoralis*	46
LOIRE-ATLANTIQUE	Campbon (CPB)	*C. hortensis*	48
	La Chapelle-Launay (CHA)	*C. hortensis*	52
NIEVRE	Courcelles (COU)	*C. nemoralis*	29
DEUX-SEVRES	St Maixent (MXT)	*C. nemoralis*	12
PYRENEES ORIENTALES	Perthus (PE1, PE2)	*C. nemoralis*	32, 31
	Fondpédrouse (FDP)	*C. nemoralis*	24
	Col St Louis (CSL)	*C. nemoralis*	28
AUDE	St Hubert (AUD)	*C. nemoralis*	15
	Axat (AXA)	*C. nemoralis*	30
	Estagniels (ESn)	*C. nemoralis*	14
	Estagniels (ESh)	*C. hortensis*	12
ARIEGE	Campnègre (CN1, CN2)	*C. nemoralis*	37, 35
	Montségur (MSn)	*C. nemoralis*	19
	Montségur (MSh)	*C. hortensis*	19
	Sentenac (SEN)	*C. nemoralis*	30
HAUTE-GARONNE	Auterive (AUT)	*C. nemoralis*	23
VAR	Collobrières (COL)	*C. nemoralis*	6

Les valeurs des distances génétiques entre les 23 stations-populations prises deux à deux sont calculées à partir de la fréquence des 50 allèles identifiés chez *Cepaea nemoralis* et *Cepaea hortensis* (six électromorphes semblent communes aux deux espèces). Le classement hiérarchique des populations déduit de la matrice d'association des distances est réalisé selon les deux techniques agglomératives à liens simples et liens complets de Legendre et Legendre (1979).

Résultats

Les dendrogrammes illustrent l'existence de quatre groupes de populations dont la formation dépend évidemment de l'espèce mais également de l'origine géographique de l'échantillon (Figs.2 et 3). Ainsi, la première troncature sépare les deux espèces, le goupe le plus distinct représentant *Cepaea hortensis* ; la distance minimale qui le sépare des *Cepaea nemoralis* (d = 0,55) est celle des colonies LTT et CHA, plus proches par la fréquence de deux électromorphes communes : LAP-2^{Nul} (absence totale d'activité enzymatique identifiée au locus LAP-2 en CHA et CPB chez *Cepaea hortensis*, uniquement en LTT chez *Cepaea nemoralis*) et PGM-3100 (majoritaire dans 15 colonies de *Cepaea nemoralis*, seulement en CHA chez *Cepaea hortensis*). Par ailleurs, la divergence interspécifique repose, de manière fragile, sur une valeur moyenne de 0,82. La petite taille des échantillons (35 individus) et le nombre faible de locus enzymatiques analysés empêche évidemment toute interprétation évolutive ou taxinomique des données obtenues, les distances génétiques n'étant alors que de simples descripteurs d'un degré de différenciation entre populations. Toutefois, le nombre

élevé de substitutions (82 sur 100 locus) éloignant ces deux espèces très proches morphologiquement, signifie qu'elles diffèrent largement par leur composition biochimique, résultat peu surprenant si l'on se réfère aux travaux d'Ayala (1975) mentionnant une distance génétique supérieure à 1 entre deux espèces jumelles de drosophiles. Le nombre insuffisant d'informations limite également l'interprétation de la classification des cinq échantillons de *Cepaea hortensis* ; le plus petit indice génétique (d = 0,04) associe cependant les deux stations les plus proches sur le terrain (CHA et CPB) et le plus élevé (d = 0,26) pourrait traduire l'isolement de la colonie pyrénéenne de Monségur (MSh).

Le degré de dissemblance génétique entre les colonies de *Cepaea nemoralis* fluctue autour d'une valeur moyenne de 0,22. Les divergences intrarégionales (d < 0,05) sont en effet plus faibles que celles mesurées entre les stations issues de régions différentes (d > 0,10). Les trois autres groupes de populations présents sur les profils d'agglomération témoignent ainsi de ces variations d'ordre géographique. Les colonies appartenant au secteur Nord-Ouest (Bretagne et Deux-Sèvres) se détachent nettement du groupe correspondant au secteur Sud-Est (région pyrénéenne et Var). Au sein de ce dernier groupe, si l'on exclut l'échantillon d'Axat (original par la fréquence élevée de l'allèle SOD-1120), la méthode utilisant les distances minimales associe en premier lieu (d < 0,06) les stations de faible altitude situées dans l'Aude et dans l'Ariège (Fig.2). Parmi ces populations, les quatre premières classées forment un sous-groupe dans lequel la distance génétique maximale est de 0,02. Cette organisation disparaît dans la classification résultant du groupement à liens complets, les colonies du Col St-Louis (CSL) et de Monségur (MSn) s'intercalant entre les autres échantillons de ce secteur Sud-Est (Fig.3).
Les populations pyrénéennes PE1, PE2, et FDP, à l'origine du troisième groupe formé, s'éloignent considérablement des autres colonies de *Cepaea nemoralis* (d > 0,78). L'absence

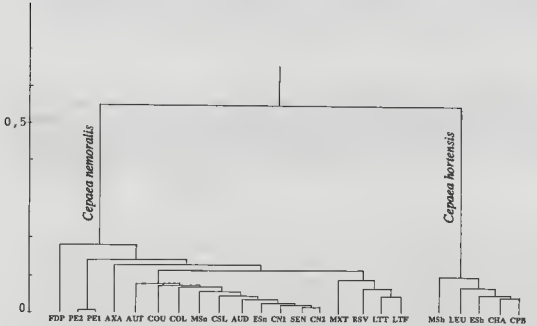


Fig.2- Groupements à liens simples des 23 populations de *Cepaea nemoralis* et *Cepaea hortensis*, d'après leurs distances génétiques (Nei, 1972).

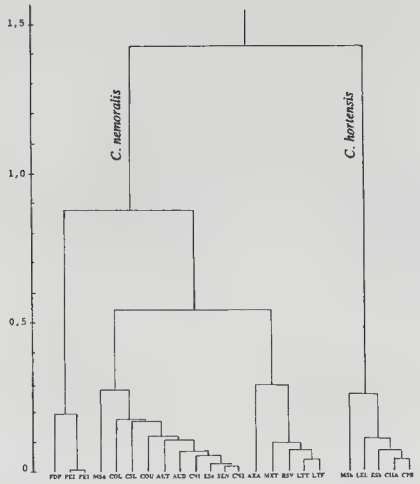


Fig.3- Groupements à liens complets des 23 populations de *Cepaea nemoralis* et *Cepaea hortensis*, d'après leurs distances génétiques (Nei, 1972).

de variabilité génétique (hétérozygotie calculée moyenne : 0,07) caractérisant ces stations de plus haute altitude, explique cette importante différenciation. La plus grande identité biochimique mesurée ($d < 0,005$) se rapporte évidemment aux échantillons PE1 et PE2 collectés l'un et l'autre au Col du Perthus mais à des dates différentes.

La première analyse factorielle des correspondances porte sur les 50 allèles recensés dans les 23 populations de *Cepaea nemoralis* et *Cepaea hortensis*. Cette analyse, dont le plan principal est illustré par la figure 4, nous a conduit à considérer par la suite les deux espèces séparément. En effet, les plus fortes contributions relatives à l'axe 1 (38% de l'inertie totale) reviennent uniquement aux électromorphes les plus fréquentes identifiées chez *Cepaea hortensis*, en l'occurrence MDH-1^{100}, LAP-2^{100}, EST-1^{100} et PGI-1^{100}. Cet axe oppose donc les deux espèces, ce qui explique le faible écart à l'indépendance de leurs allozymes communes. Par ailleurs, l'axe 2, dont le pouvoir explicatif n'est que de 14%, ne fournit que des indications médiocres sur l'identité des populations ou des groupes étudiés. Notons toutefois l'isolement des colonies du Perthus (PE1 et PE2) et de Fondpédrouse (FDP) induit par l'allèle PGM-3^{110}, quasi-fixé dans ces trois échantillons et qui, de plus, leur semble exclusif.

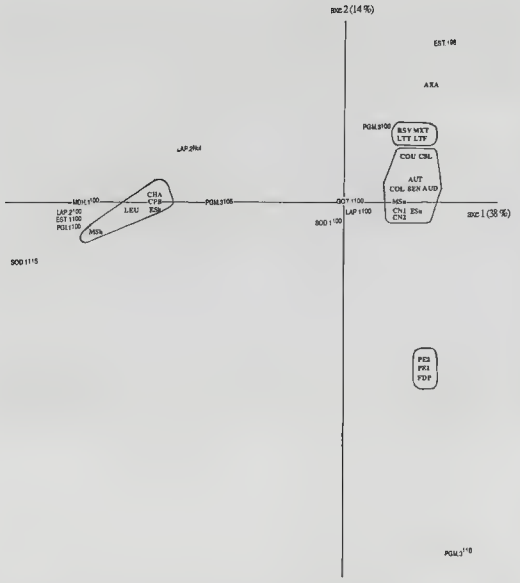


Fig.4- Plan principal (axe 1 horizontal, axe 2 vertical) de l'AFC réalisée entre les 50 allèles et les 23 populations de *Cepaea nemoralis* et *Cepaea hortensis*.

Sur le plan (1, 2) de l'analyse consacrée aux colonies de *Cepaea hortensis*, l'axe 1 est largement défini par l'échantillon de Monségur (MSn) (contribution de 73%) (Fig.5). La fréquence plus élevée ou la présence exclusive de certains allèles, respectivement MDH-1^{96} et LAP-1^{98}, SOD-1^{115} et PGI-1^{104}, expliquent en partie son isolement. L'axe 2 discrimine la population parisienne LEU (59% de l'inertie de cet axe) du fait de l'allèle rare LAP-1^{96} qu'elle seule possède. A l'opposé, l'absence d'électromorphes MDH-1^{96} provoque le regroupement des colonies de La Chapelle (CHA) et de Campbon (CPB). L'identification d'un allèle nul au locus des estérases ainsi qu'une forte participation de PGI-1^{94} à Campbon (q = 0,594) contribuent néanmoins à entraîner cet échantillon du côté négatif de l'axe. Cette discrimination des deux populations de Loire-Atlantique est accentuée par l'axe 3 en raison essentiellement des allèles rare (LAP-2^{94}) ou majoritaire (EST-1^{102}) recensés à La Chapelle (dont la contribution à l'axe 3 est de 58%). La position d'Estagniels (ESh) est liée en revanche au pourcentage important d'allozymes LAP-2^{94} observé dans cette station. Cet échantillon formerait probablement l'un des axes ultérieurs de l'analyse.

Fig.5- Représentation simultanée des 28 allèles et des 5 populations de *Cepaea hortensis* sur le plan principal (axe 1 horizontal, axe 2 vertical) de l'AFC.

La représentation simultanée des 18 colonies et des 28 allèles sur le plan principal (59% de l'inertie des nuages) de l'analyse des *Cepaea nemoralis* est reportée sur la figure 6. On retrouve ici les trois groupes de populations précédemment formés selon les distances de Nei et l'on voit qu'ils se répartissent essentiellement en fonction des locus PGM-3, EST-1, LAP-2 et PGI-1. L'axe 1 (pouvoir explicatif de 35%) oppose l'ensemble déterminé par les trois stations PE1, PE2 et FDP, défini auparavant selon PGM-3^{110} et caractérisé à présent par l'allèle LAP-2^{97}, au groupe de populations du Nord-Ouest (Bretagne et Deux-Sèvres) dans lesquelles l'électromorphe 100 du locus des estérases se substitue largement à l'électromorphe 98 (à l'exception toutefois d'AXA). Ce changement d'allèle majoritaire justifie partiellement le regroupement du côté négatif des colonies pyrénéennes caractérisées par l'allozyme EST-1^{100}. L'axe 2, formé par des allèles de moindre importance (contribution à l'inertie totale de 23%), tend cependant à étirer chacun des trois noyaux décrits. Les populations au sein desquelles l'électromorphe PGI-1^{94} est fréquente, en l'occurrence LTT, LTF, AUT et surtout FDP ($q_{PGI\text{-}1^{94}}$ = 0,750) s'éloignent ainsi de celles appartenant à leur groupe d'origine. A l'opposé du plan, l'allozyme rapide 107 du locus LAP-2, abondante notamment à Monségur (MSn) et au Col St-Louis (CSL), entraîne le long de l'axe 2 le groupe formé par les échantillons prélevés dans l'Aude et l'Ariège. L'isolement d'AXA, très net sur

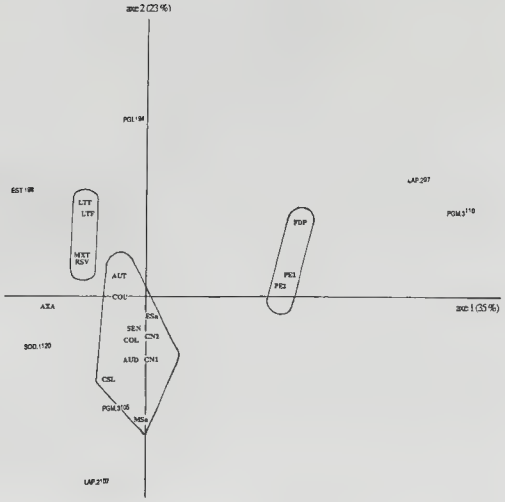


Fig.6- Représentation simultanée des 28 allèles et 18 populations de *Cepaea nemoralis* sur le plan principal (axe 1 horizontal, axe 2 vertical) de l'AFC.

l'axe 3 (52% de l'inertie expliquée par cet axe), reflète le nombre d'apparitions particulièrement élevé de l'allèle SOD-1^{120} dans cette population (q = 0,883). Les autres stations, marquées par l'absence ou la présence plus rare de cette allozyme, s'écartent de ce fait peu de l'indépendance. Parce qu'ils possèdent l'allèle PGM-3^{105}, les échantillons de Campnègre (CN1, CN2) et de Monségur (MSn) bénéficient toutefois d'une meilleure différenciation sur cet axe.

La première analyse factorielle des correspondances est complétée par une classification hiérarchique ascendante réalisée à partir du même tableau de contingence (Fig.7). Le regroupement des 23 populations, selon la moyenne des distances pondérées, rappelle étroitement celui établi à l'aide des distances génétiques maximales. On observe toutefois une meilleure concordance entre les groupes formés et la localisation géographique des échantillons : les *Cepaea nemoralis* de Courcelles (COU) se détachent effectivement de l'ensemble pyrénéen et la colonie parisienne de *Cepaea hortensis* (LEU) se rapproche non plus de celle d'Estagniels (ESh), mais des deux populations de Loire-Atlantique (CHA et CPB). Cette inversion serait imputable à l'effectif réduit (12 individus) de la colonie pyrénéenne (pondération par les marges introduite dans l'A.F.C).

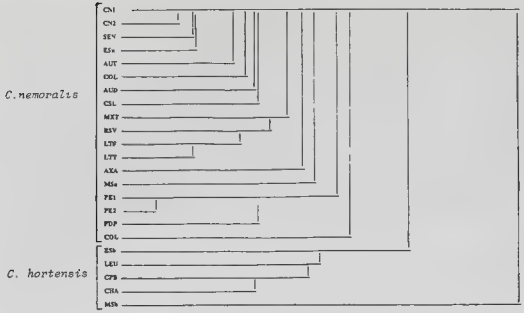


Fig.7- Arbre hiérarchique de la classification ascendante des 23 populations de *Cepaea nemoralis* et *Cepaea hortensis*, d'après la distance de χ^2 (moyenne des distances pondérées).

Discussion-conclusion

Même si le descripteur choisi (distance de Nei) fournit dans ce travail des estimations très précaires sur la différenciation génétique des populations, il apparaît que les valeurs intra- ou interspécifiques obtenues entre les échantillons s'accordent avec les divergences locales et régionales observées chez *Cepaea nemoralis* et *Cepaea hortensis* en régions pyrénéenne et parisienne (Valdez-Forsans, 1986 ; Kassem, 1987 ; Guerrucci et al., 1988). Ces données sont également comparables à celles recueillies chez *Helix aspersa* à l'échelle de son aire de répartition (Madec, 1989).

L'importante diversité protéinique apparue entre la Bretagne et les Pyrénées explique l'augmentation du degré de dissemblance génétique au niveau interrégional. Ainsi, certains changements d'allèle majoritaire (allozymes alternatives EST-1^{98} et EST-1^{100}) déjà constatés, non seulement entre régions (Johnson, 1979 ; Jones et al., 1980), mais également entre secteurs beaucoup plus proches géographiquement (Valdez-Forsans, 1986 ; Kassem, 1987 ; Kassem et al, 1988), de même que l'accroissement progressif de certaines fréquences géniques selon le secteur considéré (électromorphe lente ou rapide suivant l'espèce) sont les causes essentielles de la différenciation géographique des populations. Les variations clinales remarquées par Ochman et al. (1987) illustrent également ce type de différenciation lié, semble-t-il, au rôle prédominant des facteurs climatiques.

La présence d'allozymes propre à certaines colonies entraîne quant à elle des disparités intrarégionales. Ainsi, l'isolement génétique des populations du Perthus et de Fondpédrouse est essentiellement dépendant de l'allozyme PGM-3^{110}. La discrimination de ces populations de plus haute altitude est cependant accentuée par leur très faible variabilité génétique. Des réductions semblables de la diversité génique se traduisent aussi chez d'autres espèces par de plus importantes différenciations entre populations de plaine et populations de montagne ; tel est le cas de l'escargot Petit-gris *Helix aspersa* Müller (étude en cours).

Nos données sont insuffisantes pour tenter de comprendre la position originale qu'occupe l'échantillon d'Axat ; il présente en effet à certains locus des caractères qui le rapprochent tantôt du groupe pyrénéen (SOD-1), tantôt du groupe breton (EST-1). Selon Valdez-Forsans (1986), l'influence de l'altitude justifierait pour sa part le très fort pourcentage d'allèles SOD-1 120 rencontré dans cette colonie ; cet auteur observe en effet des fréquences similaires dans toutes les populations analysées de la haute vallée pyrénéenne de la Neste d'Aure.
On peut en revanche interpréter plus facilement les divergences relatives à la colonie mixte de Monségur. Les caractéristiques orographiques de cette station pourraient en effet avoir favorisé l'intervention de certains phénomènes aléatoires tel l' effet de fondation. L'évolution similaire chez les deux espèces de certaines fréquences géniques suggère quant à elle l'action probable de pressions sélectives. Plus précisément, le monomorphisme inhabituel observé au locus des estérases pourrait être le reflet d'une sélection directionnelle. Quant à la diversité allélique surprenante observée au locus des SOD chez *Cepaea hortensis*, elle pourrait comme chez son espèce jumelle, être une conséquence de l'influence de l'altitude. De telles concordances biochimiques n'aboutissent pas cependant à un rapprochement génétique des deux taxons lorsque ceux-ci cohabitent ; en effet, à Monségur comme à Estagniels, les distances interspécifiques ne sont pas inférieures à celles estimées entre populations de localités différentes. Ces observations, appuyées par d'autres résultats (Guerrucci et al., 1988), confirment non seulement l'absence d'échanges géniques entre *Cepaea nemoralis* et *Cepaea hortensis*, mais suggèrent aussi que de telles divergences entre espèces sont le fait d'exigences écologiques différentes leur permettant de cohabiter de façon stable dans des milieux hétérogènes (Lamotte et Génermont, 1983 ; Génermont et Lamotte, 1986). Pour tenter d'expliquer certaines variations du polymorphisme de la coquille dans des populations sympatriques de *Cepaea nemoralis* et *Cepaea hortensis*, Mazon et al. (1989) ont toutefois fait appel, outre à une sélection climatique, à la compétition interspécifique.

Ces résultats préliminaires suggèrent en définitive l'impact de plusieurs types de facteurs sur la différenciation génétique des populations de *Cepaea nemoralis* et *Cepaea hortensis*. La localisation géographique des stations choisies, assez représentative de la diversité des milieux colonisés par les deux espèces, fait ressortir la part non négligeable des facteurs climatiques dans la discrimination protéinique des populations lorsque celles-ci appartiennent à des zones latitudinales ou altitudinales variables. Ce mode de sélection semble cependant se combiner parfois à des processus stochastiques tels des effets de fondation. La colonie mixte de Monségur mais surtout celles du Perthus et de Fondpédrouse illustrent relativement bien ce modèle d'interactions ; les conditions écologiques rigoureuses auxquelles elles sont soumises en raison de l'altitude doivent engendrer de fréquentes extinctions dont une conséquence logique est la diminution de la variabilité génétique.

AYALA F., 1975. Genetic differenciation during the speciation process. *Evol. Biol.*, **8** : 1-78.

CAUGANT D, JONES J.S., SELANDER R.K , 1982. Morphological and molecular polymorphisms in *Cepaea nemoralis* in the Spanish Pyrenees. *Genetica*, 57, 3 : 177-192.

GENERMONT J., LAMOTTE M., 1986. Place et rôle de l'adaptation dans l'évolution des organismes. *Boll. Zool.*, 53 : 215-237.

GUERRUCCI M A., KASSEM I., TILLIER S., 1988. Isolement reproducteur entre les espèces *Cepaea nemoralis* (L.) et *Cepaea hortensis* (Müller) (Mollusca : Gastropoda : Helicidae). *Bull. Soc. Zool. Fr.*, 113, 4 : 389-400.

JOHNSON M.S., 1979. Inheritance and geographic variation of allozymes in *Cepaea nemoralis*. *Heredity*, **43** : 137-141.

JONES J.S., SELANDER R.K., SCHNELL G., 1980. Pattern of morphological and molecular polymorphism in the land snail *Cepaea nemoralis*. *Biol. J. Linn. Soc.*, **14** : 359-387.

KASSEM I., 1987. La variation géographique des polymorphismes phénotypique et enzymatique dans les populations de *Cepaea nemoralis* des Pyrénées françaises. *Pub. Lab. Zool., E.N.S. Ulm, Paris*, **33**, 191 p.

KASSEM I., 1988. Le polymorphisme enzymatique dans les populations de *Cepaea nemoralis* de la région parisienne. *Bull. Soc. Zool. Fr.*, 113, **2** : 169-174

KASSEM I., LAMOTTE M., VALDEZ M., 1988. Variabilité enzymatique dans les populations de *Cepaea nemoralis* de la vallée d'Ossau, Pyrénées. *C.R. Acad. Sci. Paris*, 306, série III : 405-407.

LAMOTTE M., GENERMONT J., 1983. Variation intraspécifique ou plurispécificité, deux stratégies de réponse à l'hétérogénéité du milieu. Dans *Modalités, rythmes et mécanismes de l'évolution biologique. Coll. Int. CNRS. Chaline, J., éd.* **330** : 295-301.

LEGENDRE L., LEGENDRE P., 1979. Ecologie numérique. Tome II : la structure des données écologiques. *Masson éd., Paris*, 149 p.

MADEC L., 1989. Etude de la différenciation de quelques populations géographiquement séparées de l'espèce *Helix aspersa* Müller : aspects morphologiques, écophysiologiques et biochimiques.*Doct. Univ Rennes I, 345, 380 p.*

MAZON L.I., MARTINEZ DE PANCERBO M.A., VICARIO A., AGUIRRE A.I., ESTOMBA A., LOSTAO C.M., 1989. Selection in sympatric populations of *Cepaea*. *Genet. Sel. Evol.*, **21** : 269-281.

NEI M., 1972. Genetic distance between populations. *Amer. Natur.*, **106** : 283-292.

OCHMAN M., JONES J.S., SELANDER R K , 1987. Large scale patterns of genetic differenciation at enzyme loci in the landsnails *Cepaea hortensis* and *Cepaea hortensis*. *Heredity*, **58** (1) : 127-139.

VALDEZ-FORSANS M., 1986. Le polymorphisme enzymatique chez les *Cepaea nemoralis* (Moll. Pulmonés) de deux vallées pyrénéennes. *Pub. Lab. Zool. E.N.S. Ulm, Paris*, **29**, 181 p.

Société Française de Malacologie
ASPECTS RÉCENTS DE LA BIOLOGIE DES MOLLUSQUES
Ifremer, Actes de Colloques, no. 13, 1992, p. 147-154

14

LE CONTROLE CHIMIQUE ET BIOLOGIQUE DE *LYMNAEA TRUNCATULA* MÜLLER. ETUDE DES EFFETS A LONG TERME

RONDELAUD D.

Faculté de Médecine, 2, rue du Docteur-Raymond-Marcland, 87025 LIMOGES Cédex

RESUME : Les habitats traités n'ont pas été recolonisés par *Lymnaea truncatula*. Quatre mollusques aquatiques montrent une augmentation de leurs effectifs : *L.glabra* dans les stations de la Haute-Vienne, *L.glabra, Physa acuta, P.hypnorum* et *Planorbis rotundatus* dans les habitats de l'Indre. Les nombres d'individus de *L.glabra* et *P.acuta* passent par des maximums au cours de la troisième année avant de décroître par la suite ; ceux de *P.hypnorum* et *P.rotundatus* s'accroissent légèrement à partir de la troisième ou de la quatrième année post-traitement. La colonisation des habitats de *L.truncatula* est incomplète et ne dépasse pas 50% de la surface pour *L.glabra* et *P.acuta*, 20% pour *P.hypnorum* et *P.rotundatus*. Les habitats traités n'ont pas été recolonisés par le bivalve *Pisidium casertanum*. Les mollusques terrestres hygrophiles ne montrent pas de modifications dans leurs nombres pendant les cinq années après le traitement lorsqu'on compare les effectifs avec ceux des stations témoins.

Mots clés : contrôle biologique, contrôle chimique, *Lymnaea* sp., *Physa* sp., *Planorbis rotundatus*

THE CHEMICAL AND BIOLOGICAL CONTROL OF *LYMNAEA TRUNCATULA* MÜLER. A REPORT ON LONG-TERM EFFECTS

***ABSTRACT** : The treated habitats have not been recolonized by* Lymnaea truncatula. *Four aquatic snail species showed an increase in their numbers :* L.glabra *in the stations of Haute-Vienne,* L.glabra, Physa acuta, P.hypnorum *and* Planorbis rotundatus *in the habitats of Indre. The numbers of individus of* L.glabra *and* P.acuta *reached their maximum on the third year and decreased thereafter ; those of* P.hypnorum *and* P.rotundatus *slightly increased from the fourth or the fifth years treatment. The colonization of* L.truncatula *habitats was incomplete and did not reach over 50% of the surface for* L.glabra *and* P.acuta, *20% for* P.hypnorum *and* P.rotundatus. *The bivalve* Pisidium casertanum *did not recolonize treated habitats. There were no modifications in the numbers of hygrophilous terrestrial molluscs during the five after-treatment years when compared to control stations.*

Keywords : biological control, chemical control, *Lymnaea* sp., *Physa* sp., *Planorbis rotundatus*

INTRODUCTION

Le Mollusque *Lymnaea truncatula* Muller intervient comme hôte intermédiaire dans le cycle d'un parasite, *Fasciola hepatica* L. (LEUCKART, 1883 ; THOMAS, 1883). La prévention de cette helminthiase peut être assurée par la destruction de la limnée. Des travaux antérieurs vont dans ce sens en rapportant l'élimination complète du Pulmoné de ses habitats en une seule année à l'aide d'un contrôle associant un traitement chimique préalable et l'emploi de Mollusques prédateurs (RONDELAUD, 1986, 1988).

La généralisation d'un contrôle de ce type ne peut se faire sans une étude des effets à terme. Une première note précise les conséquences à court terme sur les autres limnées vivant à côté des habitats de *L. truncatula* (RONDELAUD, 1986). Le présent travail complète ces observations en rapportant les effets à long terme sur les autres espèces de Mollusques.

MATERIEL ET METHODES

1. Stations prospectées

Huit habitats à *L. truncatula* ont été traités par le contrôle mixte avec un déversement de 8 l de $CuCl_2$ (1 mg/l) dans chaque station en avril-mai et l'emploi d'un Mollusque prédateur, *Zonitoides nitidus* Müller, au début de l'assèchement estival (fin juin ou début juillet) (RONDELAUD, 1986, 1988). Ils se répartissent entre:

- quatre stations situées à l'extrémité distale de rigoles de drainage, sur terrain siliceux, dans les communes de Feytiat et de Verneuil-sur-Vienne, département de la Haute-Vienne.

- quatre stations localisées dans des fossés le long des routes D 20 et D 58 sur les communes de Migné et Nuret-le-Ferron, département de l'Indre. Le sédiment est, dans ce cas, sédimentaire.

Des habitats témoins ont été constitués: trois dans la Haute-Vienne, cinq pour l'Indre. Ils n'ont pas été traités par le contrôle.

La superficie des habitats à *L. truncatula* est de 12 à 30 m^2 par station.

La Limnée tronquée a été éliminée dans les habitats traités. Elle est présente dans les stations témoins.

2. Protocole d'étude

Trois séries de relevés ont été réalisées dans les habitats traités et témoins pendant 4 ou 5 années après le contrôle mixte. La première série (A) a été pratiquée à la mi-avril, la seconde (B) en juin ou au début de juillet, avant le dessèchement des habitats, et la dernière (C) au début de septembre après les premières précipitations post-estivales.

Les observations portent sur la rigole entière dans le cas de la Haute-Vienne, sur la superficie de la zone humide dans les fossés de l'Indre. Les Mollusques présents dans la végétation ou sur le sédiment (immergé ou émergé) sont dénombrés par chasse à vue et laissés sur place. Les pisidies, enfouies dans le sédiment superficiel, sont dénombrées dans deux quadrats de 0,5 m^2 chacun par station et leur nombre total est estimé en fonction de la superficie de la station.

Le dénombrement concerne les espèces suivantes: a) *L. glabra* Muller, *L. truncatula*, *Pisidium casertanum* Poli, *Succinea putris* L., *Z. nitidus* dans les stations de la Haute-Vienne; b) *L. glabra*, *L. truncatula*, *Physa acuta* Draparnaud, *P. hypnorum* L., *P. casertanum*, *Planorbis rotundatus* Poiret, *S. putris* dans les fossés de l'Indre.

La colonisation des habitats de *L. truncatula* par certaines espèces a, de plus, été évaluée en rapportant la surface colonisée à la superficie totale de l'habitat. La valeur du rapport est exprimée en pourcentage.

Les résultats obtenus pour chaque espèce de Mollusque sont ramenés à une moyenne, encadrée d'un écart type, en tenant compte de l'origine géographique de la station, de sa nature et de la série des relevés.

RESULTATS

1. Pulmonés aquatiques de la Haute-Vienne

a). Rigoles et fossés témoins

Les effectifs de *L. glabra* présentent un maximum en juillet et des chiffres plus faibles lors des autres relevés. Les valeurs annuelles de chaque relevé pris isolément sont assez stables: 318 à 450 individus en moyenne par colonie en juillet entre 1984 et 1989 (fig. 1a).

La superficie moyenne d'un habitat à *L. glabra* est, de même, maximale en juillet et moins élevée pour les deux autres: 33 à 38 m^2 en juillet, 24 à 33 m^2 en avril et septembre (fig. 1c).

Les résultats des deux autres limnées se superposent à ceux de *L. glabra*. *L. palustris* a un effectif moyen de 640 à 810 individus et une superficie d'habitat de 120-160 m^2 en juillet. Les moyennes sont de 37 à 88 *L. truncatula* par colonie et de 12 à 15 m^2 par habitat au mois de juillet (résultats non représentés).

b). Zones traitées par le contrôle mixte

L. truncatula n'a pas été retrouvée dans trois rigoles. Les six individus présents dans la quatrième station en septembre 1984 ont disparu l'année suivante.

Les effectifs de *L. palustris* et la superficie des habitats n'ont pas montré de variation à partir de 1985: les valeurs sont identiques à celles des témoins (résultats non

représentés).

Par contre, des perturbations importantes ont été notées chez *L. glabra* avec une expansion temporaire de ses colonies: a) l'accroissement des effectifs est progressif, sur trois années (1985-1987) avec un retour à la normale en 1988-1989: les dernières moyennes sont cependant plus faibles que celles des populations témoins (fig. 1b); b) la superficie des gîtes est sensiblement identique en mai et septembre mais elle double lors du relevé de juillet (fig. 1d). Cet accroissement temporaire de la superficie des habitats s'observe de

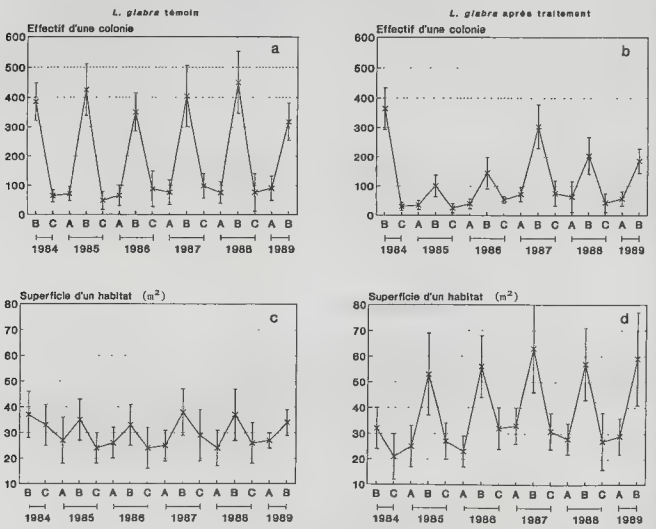


Fig. 1 - L'évolution de *L. glabra* en Haute-Vienne: a) les effectifs dans trois stations témoins (1a) et dans quatre localités après application du contrôle mixte en 1984 (1b); b) la superficie moyenne des habitats de la limnée (1c et 1d).

1985 à 1989 et s'effectue essentiellement vers l'amont, aux dépens des zones où vivait *L. truncatula*.

2. Pulmonés aquatiques de l'Indre

On note également des variations entre les stations témoins et celles traitées

par le contrôle:

a). Fossés témoins

Les effectifs des colonies et la superficie des habitats sont assez stables lorsqu'on considère les chiffres obtenus pour un même relevé entre 1986 et 1989.

Les gîtes de *L. truncatula* s'étendent sur une longueur de fossé comprise entre 51 et 89 m au mois de juin. L'effectif moyen d'une colonie est de 386 à 510 individus (résultats non représentés).

Les autres espèces (*L. glabra*, *P. acuta*, *P. hypnorum*, *P. rotundatus*) ont un gîte de longueur plus faible: 37 à 53 m en moyenne lors des relevés de juin (fig. 2a). Les colonies sont localisées dans la partie la plus basse du fossé, juste à proximité des ruisseaux. Leurs effectifs en juin sont compris entre 56 et 114 individus pour *L. glabra*, entre 120 et 207 individus pour les deux espèces de physes prises séparément, et entre 34 et 68 individus pour les planorbes (résultats non représentés).

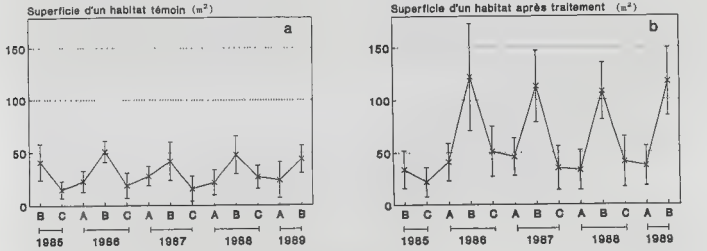


Fig. 2 - L'évolution des habitats de *L. glabra* et *P. acuta* dans l'Indre: a) dans les cinq stations témoins (2a); b) dans les quatre stations après application du contrôle mixte en 1985 (2b).

b). Fossés traités

Les quatre stations ne possédaient plus de *L. truncatula* au début des observations.

Après le contrôle, deux espèces, *L. glabra* et *P. acuta*, ont présenté une expansion temporaire de leurs colonies vers les gîtes à *L. truncatula*:

- Les deux mollusques montrent une brusque expansion de leurs effectifs en 1986 avec des valeurs maximales en juin (286 *L. glabra* et 387 *P. acuta* en moyenne par fossé); par la suite, on assiste à une diminution progressive des effectifs jusqu'à 143 *L. glabra* et

217 *P. acuta* en juin 1989 (fig. 3a et 3b).

- Les dimensions des habitats sont à peu près le double de celles notées dans les fossés témoins au mois de juin (fig. 2b).

L'expansion des deux autres espèces, *P. hypnorum* et *P. rotundatus*, est plus tardive, à partir de 1988. L'accroissement des effectifs est limité: 227 et 204 individus en moyenne pour *P. hypnorum* en juin 1988 et juin 1989, 103 et 96 pour *P. rotundatus* (fig. 3c et 3d). Les dimensions de leurs habitats sont supérieures de 20 % à celles rapportées pour les gîtes témoins (résultats non représentés).

La colonisation des gîtes à *L. truncatula* n'est pas complète. Elle ne dépasse pas 50 % de la longueur de ces habitats pour *L. glabra* et *P. acuta*, 20 % pour *P. hypnorum* et *P. rotundatus*.

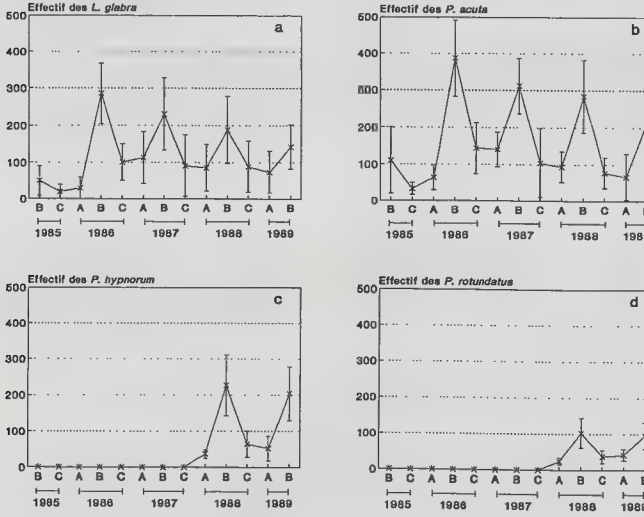


Fig. 3 - Les effectifs de quatre Pulmonés dans l'Indre après application du contrôle mixte en 1985: *L. glabra* (3a), *P. acuta* (3b), *P. hypnorum* (3c) et *P. rotundatus* (3d).

3. Autres Mollusques

Le Bivalve *P. casertanum* n'a pas recolonisé les habitats traités. Le dénombrement des pisidies dans les quadrats a toujours été négatif.

Les effectifs des deux mollusques terrestres dans les habitats traités sont sensiblement identiques à ceux obtenus dans les gîtes témoins. La densité des succinées est de 37 à 71 pour 5 m² d'habitat dans les rigoles de la Haute-Vienne lors du relevé de juin, de 5 à 14 pour la même superficie dans les fossés de l'Indre. Celle des *Z. nitidus* oscille entre 35 et 79 individus pour une superficie de 5 m² dans les habitats de la Haute-Vienne au mois de juin (résultats non représentés).

DISCUSSION

L. glabra et *P. acuta* montrent une expansion temporaire de leurs colonies après l'application d'un contrôle mixte sur les habitats de *L. truncatula*. Ce résultat est conforme aux observations rapportées sur l'évolution de la malacofaune après un contrôle biologique de la Limnée tronquée (ROUDELAUD, 1982). En revanche, le développement plus tardif et plus limité de *P. hypnorum* et *P. rotundatus* n'a pas reçu d'explication. L'hypothèse la plus valable est d'admettre que les espèces les plus colonisatrices du peuplement seraient *L. glabra* et *P. acuta*: la chute de leurs effectifs sur le terrain se traduirait par une expansion plus tardive des autres Mollusques.

L'absence de *P. casertanum* dans les habitats de *L. truncatula* après le traitement n'a pas été constatée après l'application d'un contrôle biologique isolé (ROUDELAUD, 1982). Deux hypothèses, peut-être complémentaires, peuvent expliquer ce résultat:

- a) la colonisation des habitats par le Bivalve serait un processus lent, se produisant sur plusieurs années;

- b) le chlorure cuivrique utilisé lors du contrôle mixte serait retenu en partie par le sédiment superficiel des stations, ce qui se traduirait par un effet de rémanence, peut-être sélectif, vis-à-vis du Mollusque. Cette dernière hypothèse ne peut être vérifiée qu'en procédant à des prélèvements de sédiment superficiel dans les habitats traités et au dosage des ions cuivrique.

Les Mollusques hygrophiles n'ont pas montré de fluctuations dans leurs effectifs au cours des années après le traitement. Les chiffres relevés pour le prédateur *Z. nitidus* s'inscrivent dans la gamme des valeurs rapportées par DIDIER (1985) dans les prairies de la Haute-Vienne et par MOENS (1982) en Belgique. Le contrôle mixte n'a pas entraîné d'effets à long terme sur ces espèces, ce qui indique l'existence d'une certaine spécificité de ce traitement lors de son application dans les habitats de la Limnée tronquée.

La colonisation partielle des habitats à *L. truncatula* par d'autres espèces n'a été observée que dans les stations traitées. Ceci sous-entend que dans les conditions normales, *L. truncatula* est capable de prévenir la colonisation de ses gites. Pour expliquer ce fait, il faut admettre l'existence d'un facteur, probablement secrété par la Limnée tronquée: ce dernier serait à l'origine de l'isolement de cette espèce.

DIDIER, B., 1985. Contribution à l'étude écologique et écophysiologique d'un mollusque prédateur, *Zonitoides nitidus* Muller. Thèse Doct. Univ., Limoges, n° 4, 179 p.

LEUCKART, R., 1883. Zur Entwicklungsgeschichte des Leberegels (*Distomum hepaticum*). *Arch. Naturgesch.*, **48**, 80-119.

MOENS, R., 1982. Note au sujet de la distribution de *Zonitoides nitidus* Muller dans une prairie hygromorphe non fauchée. *Bull. Ecol.*, **13**, 265-272.

RONDELAUD, D., 1982. Le contrôle biologique par prédation de *Lymnaea truncatula* Muller. Etude expérimentale de la dynamique de cinc espèces de Mollusques après arrêt du traitement. *Malacologia*, **22**, 697-700.

RONDELAUD, D., 1986. Le contrôle mixte et alterné de *Lymnaea truncatula* Muller par voie chimique et biologique. Premiers essais expérimentaux sur le terrain. *Ann. Rech. Vét.*, **17**, 15-20.

RONDELAUD, D., 1988. Le contrôle mixte et alterné de *Lymnaea truncatula* Müller. Etude comparative de trois techniques pour l'épandage du molluscicide. *Ann. Rech. Vet.*, **19**, 279-282.

THOMAS, A.P., 1883. The life-history of the liver fluke (*Fasciola hepatica*). *Quart. J. Micr. Sci.*, **23**, 99-133.

Société Française de Malacologie
ASPECTS RÉCENTS DE LA BIOLOGIE DES MOLLUSQUES
Ifremer, Actes de Colloques, no. 13, 1992, p. 155-166

LES EFFETS D'UNE INFESTATION DOUBLE : *FASCIOLA HEPATICA* L. *MUELLERIUS CAPILLARIS* MÜLLER SUR LA PATHOLOGIE VISCERALE DE *LYMNAEA TRUNCATULA* MÜLLER

HOURDIN P.[1] RONDELAUD D.[1] et CABARET J.[2]

[1] *Faculté de Médecine, 2, rue du Docteur-Raymond-Marcland, 87025 LIMOGES Cédex et Institut National de Recherche Agronomique*

[2] *Station de Pathologie Aviaire et de Parasitologie, Unité d'Ecologie des Parasites, Nouzilly, 37380 MONNAIE Cédex*

RESUME : Des Limnées tronquées de 4 mm de hauteur ont été soumises à des infestations simples par *Fasciola hepatica* ou *Muellerius capillaris*, et à des infestations doubles par les deux parasites avec un décalage de 4h, 7, 14, et 30 jours entre les deux expositions. Les observations histologiques ont porté sur la glande digestive, la gonade et le rein de limnées sacrifiées du 3ème au 35ème jour après la dernière exposition. La glande digestive et la gonade présentent un cycle de nécrose épithéliale-reconstitution dans les infestations simples et dans les doubles avec un intervalle de 4h et de 7 jours ; une première phase de nécrose se développe dans les groupes 14 et 30 jours, suivie d'une lésion mixte avec survenue d'une seconde phase de nécrose sur un épithélium en cours de reconstitution. Le rein montre a) un seul cycle dans les infestations simples et dans les doubles avec un intervalle de 4h et 7 jours, b) deux cycles dans le groupe 14 jours, et c) deux cycles avec une troisième vague de nécrose dans le groupe 30 jours.

Mots clés : ***Fasciola hepatica*, glande digestive, gonade, histopathologie, *Lymnaea truncatula*, *Muellerius capillaris*, rein**

THE EFFECTS OF A DOUBLE INFECTION : *FASCIOLA HEPATICA* L. *MUELLERIUS CAPILLARIS* MÜLLER, ON THE VISCERAL PATHOLOGY OF *LYMNAEA TRUNCATULA* MÜLLER

ABSTRACT : *Adult snails, 4 mm high, were submitted to single exposures to* Fasciola hepatica *or to* Muellerius capillaris, *and to double exposures to the two parasites, with an interexposure time of 4hr, 7, 14, and 30 days. Histological observations concerned the digestive gland, the gonad, and the kidney of snails killed from day 3 to day 35 after the last exposure. There was one cycle of epithelial necrosis-reconstitution in the digestive gland and the gonad of snails with single infections and in 4hr and 7 day groups ; a first necrosis phase occured in the 14 and 30 day groups, followed by a mixed lesion with the development of a second necrosis phase into a reconstituting epithelium. The kidney presented i) one cycle of epithelial necrosis-reconstitution in snails with single infections, and in the 4hr and 7 day groups, ii) two cycles in the 14 days group, and iii) two cycles with the development of a third necrosis phase in the 30 day group.*

Keywords : **digestive gland, *fasciola hepatica*, gonad histopathology, kidney, *Lymnaea truncatula*, *Muellerius capillaris***

INTRODUCTION

L'infestation de *Lymnaea truncatula* Müller par le Trématode *Fasciola hepatica* L. ou par le Nématode *Muellerius capillaris* Muller entraîne le développement d'une pathologie au niveau de plusieurs organes comme la glande digestive, la gonade et le rein. Une nécrose touche l'épithélium de ces viscères, suivie d'une reconstitution du tissu avec hyperplasie cellulaire. Ces processus sont le plus souvent uniques au cours d'un cycle d'infestation, parfois multiples dans le cas du rein. Les dates d'apparition des lésions et leur chronologie sont liées à l'espèce du parasite, au type de l'infestation (évolutive, abortive) et à la nature même de l'organe (RONDELAUD et BARTHE, 1983; BOUIX-BUSSON et al., 1985; HOURDIN, 1990).

Ces résultats posent le problème du devenir pour ces lésions viscérales lorsque la Limnée tronquée est infestée par les deux parasites de manière simultanée ou avec un décalage dans le temps entre les deux expositions. Le but de cette note est de répondre à cette question en rapportant les résultats d'une expérience chez *L. truncatula* soumise aux deux espèces précitées avec un intervalle de 4 heures à 30 jours entre les deux expositions.

MATERIEL ET METHODES

1. Matériel animal

Les limnées proviennent d'une population vivant dans des fossés le long de la route D 20 sur les communes de Migné et Nuret-le-Ferron (Indre). Les Mollusques ont été prélevés en mai et juin. Ils correspondent à la première génération annuelle de l'espèce et leur taille est de 4 mm pour les adultes. Les animaux sont transportés au laboratoire dans des conditions isothermes et sont maintenus pendant 48 heures dans des bacs d'élevage standard à 20° C avant d'être soumis à l'infestation.

Les oeufs de *F. hepatica* proviennent de bovins appartenant à plusieurs élevages de l'ouest et du sud de la Haute-Vienne. Ils ont été récoltés dans la vésicule biliaire de foies "saisis" pour distomatose.

Les larves L1 (du premier stade) de *M. capillaris* ont été extraites des fèces d'une chèvre soumise à une infestation expérimentale.

2. Protocole expérimental

Le tableau I précise les divers groupes expérimentaux, le nombre de Mollusques adultes par série, l'espèce du parasite et l'intervalle de temps entre les expositions lorsqu'elles sont doubles.

Trois types d'expérience ont été réalisés: a) des infestations simples avec *F. hepatica*, b) des infestations simples avec *M. capillaris*, et c) des infestations doubles par *F.*

hepatica et par *M. capillaris* avec un intervalle de 4 h, 7, 14, et 30 jours entre les deux expositions. La série témoin comporte 75 individus adultes, non exposés aux parasites.

Les Mollusques sont élevés par la suite à 23° C pendant 35 jours. Des sacrifices réguliers portant sur cinq individus par série ont été réalisés aux dates suivantes: 3,5, 7, 14, 21, 28, et 35 jours après l'exposition dans le cas des infestations simples, après la deuxième exposition dans le cas des infestations doubles.

Numéro d'ordre des séries	Nombre de Mollusques au départ	Parasite	Intervalle de temps entre les expositions	Nombre de limnées infestées		
				fixés	IA	IE
1	75	-	-	30	0	0
2	75	*F. hepatica*	-	30	3	27
3	75	*M. capillaris*	-	27[1]	10	15
4	120	*F.*	4 heures	30	10	20
5	120	*hepatica*,	7 jours	30	13	17
6	120	puis *M.*	14 jours	30	17	13
7	120	*capillaris*	30 jours	30	16	14

[1]. Le sacrifice du 35e jour n'a porté que sur deux survivants.

Tableau I. Les caractéristiques des sept groupes de limnées. IA: à infestation abortive. IE: à infestation évolutive.

Les animaux destinés au sacrifice sont plongés directement dans du fixateur de Bouin et leur coquille est détruite aussitôt sous loupe binoculaire. Ils sont ensuite débités en coupes sériées de 5 µm d'épaisseur et colorés par l'hématoxyline de Harris-trichrome de Gabe modifié.

3. Méthodologie

a). *Technique d'élevage des limnées*

Les Mollusques sont élevés dans des aquariums en circuit fermé à raison de 10 individus par dm^3 d'eau. Le sédiment est constitué par une couche de gravier recouvert par de l'eau provenant de la station d'origine. L'eau est oxygénée en permanence et maintenue à niveau constant. Les aquariums sont maintenus dans une salle soumise aux conditions suivantes: température de 23 ± 1° C, photophase de 12 heures, intensité lumineuse de 3000-4000 lux au niveau des aquariums. Les Mollusques sont nourris avec de la salade *ad libitum*.

b). *Technique d'infestation par* F. hepatica

Les oeufs de *F. hepatica* sont incubés à l'obscurité totale pendant 20 jours, à 20° C (OLLERENSHAW, 1971). L'exposition se fait en soumettant une limnée et deux miracidiums juste éclos dans une boîte de Pétri de 35 mm de diamètre avec 2-3 ml d'eau pendant quatre heures.

c). *Technique d'infestation par* M. capillaris

Les Mollusques de chaque groupe sont placés dans une boîte de Pétri de 8 cm de diamètre avec un nombre de larves variable. Ce dernier a été calculé par rapport au nombre de limnées présentes en prenant comme base 400 µl de milieu et 100 L1 pour 75 Mollusques. La durée de l'exposition est de trois heures.

4. Organes étudiés et aspects structuraux

Les observations portent sur trois organes: glande digestive, gonade, et rein. Nous avons reconnu quatre aspects structuraux dans ces viscères: un développement normal, une nécrose épithéliale, une reconstitutution de l'épithélium avec hyperplasie cellulaire, et une lésion mixte caractérisée par le développement d'une nouvelle vague de nécrose sur un épithélium en cours de reconstitution. La nécrose et la reconstitution épithéliale ont déjà été décrites dans un travail antérieur (RONDELAUD et BARTHE, 1983). Les aspects de la lésion mixte sont rapportés dans cette note.

La hauteur de l'épithélium a été déterminée en dix points pour chaque organe et chaque animal. Le nombre de cellules a été établi sur trois longueurs d'épithélium de 0,1 mm. Les valeurs obtenues sont toutes ramenées à une moyenne, encadrée d'un écart type, en tenant compte du groupe expérimental, de la date de sacrifice, de l'organe en cause et du paramètre.

RESULTATS

Le taux de survie est de 91 % au 35e jour dans la série témoin, de 77,7 % chez les Mollusques infestés par *F. hepatica* et nul chez ceux parasités par *M. capillaris*, les animaux fixés n'étant pas inclus. Dans les infestations doubles avec un intervalle de 4 h, 7, 14 et 30 jours entre les deux expositions, il reste respectivement 30, 23,3, 10 et 1,1 % de survivants à la fin de l'expérience après le sacrifice des limnées pour l'étude histologique.

L'observation des animaux fixés montre la présence de Mollusques avec une infestation évolutive (avec des parasites en vie) et d'individus avec une infestation abortive (avec dégénérescence des sporocystes). Le tableau I indique le nombre global de limnées pour chaque type d'infestation dans les différentes séries.

1. Glande digestive

La glande des témoins présente un développement normal. Les aspects lésionnels observés dans celles des individus expérimentés sont indiqués sur la figure 1 en fonction de leur fréquence.

Une nécrose touche les glandes à partir du 7ᵉ jour chez les limnées avec une infestation simple par *F. hepatica* ou *M. capillaris*. La reconstitution de l'épithélium se développe progressivement à partir du 28ᵉ jour.

Une lésion particulière se développe chez les limnées doublement infestées après la première phase de nécrose. Elle se caractérise par: a) le développement d'une reconstitution épithéliale, reconnaissable aux tubules digestifs à petit diamètre, aux bombements de l'épithélium dans les espaces intertubulaires et aux atypies nucléaires, et b) la survenue

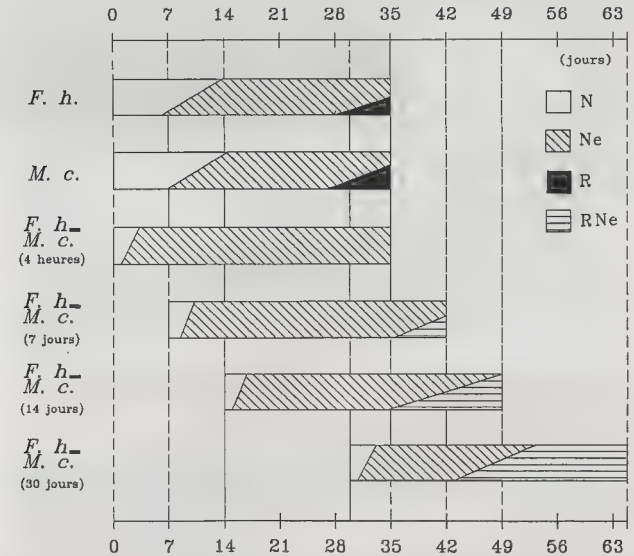


Fig. 1 - Evolution des aspects structuraux dans la glande digestive chez les limnées infestées en fonction de la durée de l'expérience. Abréviations. *F. h.*: infestation simple par *F. hepatica*. *M. c.*: infestation simple par *M. capillaris*. *F. h.-M. c.*: infestation double par *F. hepatica* et *M. capillaris*. *N*: développement normal de la glande. *Ne*: nécrose de l'épithélium. *RNe*: lésion mixte avec nécrose survenant sur une reconstitution épithéliale en cours.

d'une nouvelle vague de nécrose avec des cellules en lyse, une vacuolisation intra- et intercellulaire, des bacuets polygranulaires et des noyaux nus dans la lumière des tubules (Planche A). Il en résulte l'existence d'un épithélium pseudostratifié avec une hauteur plus faible que celle relevée dans le groupe infesté par *F. hepatica* mais avec un nombre de cellules supérieur (Fig. 2).

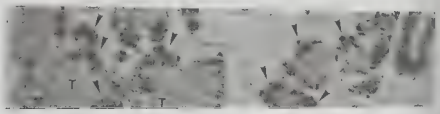
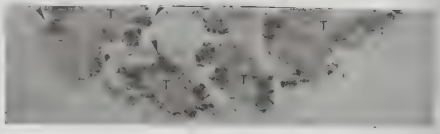


Planche A. La glande digestive des *L. truncatula* infestés: lésion mixte dans la glande chez une limnée avec une infestation double, au 65e jour (x 375). T : tubule digestif. Les têtes de flèches indiquent les zones de nécrose.



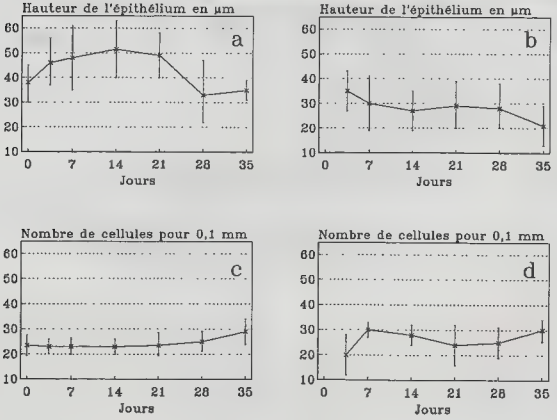


Fig. 2 - La glande digestive des *L. truncatula* infestés: i) La hauteur de l'épithélium dans les groupes avec une infestation simple par *F. hepatica* (2a) et une infestation double, 30 jours (2b); ii) Le nombre de cellules épithéliales (sur une longueur de 0,1 mm) dans les groupes avec une infestation simple par *F. hepatica* (2c) et une infestation double, 30 jours (2d).

Cette lésion mixte est absente dans le groupe 4 h. Elle se développe à partir du 35e jour dans les groupes 7 et 14 jours, du 44e dans la série 30 jours.

2. Gonade.

La gonade a un aspect normal chez tous les témoins. Celle des autres limnées présente des lésions qui sont représentées sur la figure 3 en fonction de leur fréquence.

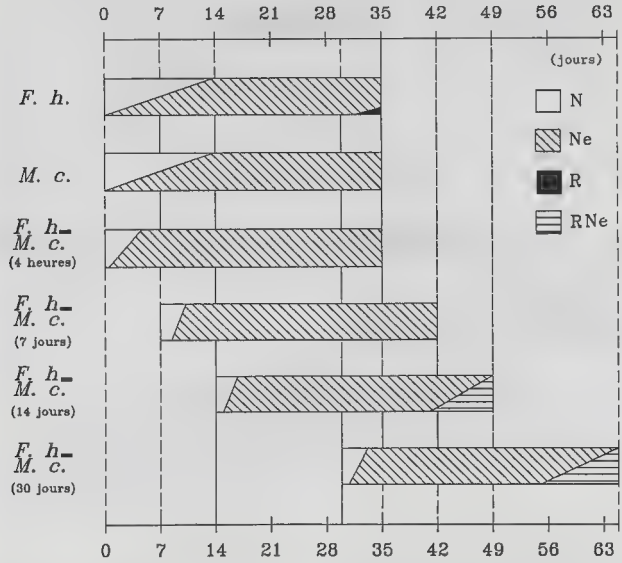


Fig. 3 - Evolution des aspects structuraux dans la gonade chez les limnées infestées en fonction de la durée de l'expérience. Abréviations. *F. h.*: infestation simple par *F. hepatica*. *M. c.*: infestation simple par *M. capillaris*. *F. h.–M. c.*: infestation double par *F. hepatica* et *M. capillaris*. N: développement normal de la glande. Ne: nécrose de l'épithélium. RNe: lésion mixte avec nécrose survenant sur une reconstitution épithéliale en cours.

La nécrose se développe progressivement dans les groupes infestés par *F. hepatica* ou *M. capillaris*. La reconstitution de l'épithélium n'apparaît qu'au 35e jour chez les limnées parasitées par *F. hepatica*.

La glande des individus avec une double infestation peut présenter une lésion mixte associant: a) une reconstitution en cours avec des acini moins nombreux que chez les témoins, un épithélium d'épaisseur réduite et, parfois, la prolifération anarchique d'une lignée, et b) une nouvelle vague de nécrose entraînant des modifications dans la forme et la coloration des ovocytes ainsi qu'une lyse de spermatogonies et spermatocytes. La hauteur de l'épithélium germinal décroît régulièrement en fonction de la durée de l'infestation (résultats non représentés) et, parfois, il ne reste plus que la membrane basale épaissie.

Cette lésion mixte fait suite à la première vague de nécrose. Elle est absente dans les groupes 4 h et 7 jours. Elle apparaît au 42e jour dans le groupe 14 jours, au 56e dans la série 30 jours.

3. Rein

Il présente une développement normal chez les témoins et deux types de lésions chez les limnées infestées. Ces derniers processus sont présentés sur la figure 4 en fonction de leur fréquence.

Dans les deux groupes avec une infestation simple, le rein montre un cycle complet de nécrose-reconstitution avec une reconstitution débutant au 14e jour. Une deuxième vague de nécrose s'observe au 28e ou au 35e jours.

Il n'y a pas de lésion mixte chez les limnées avec une double infestation. Les individus des séries 4 h et 7 jours n'ont qu'un seul cycle avec une reconstitution débutant au 28e jour. Les limnées du groupe 14 j présentent deux cycles avec une reconstitution débutant au 14e et au 28e jours. Celles du groupe 30 j ont deux cycles complets et l'amorce d'une troisième vague de nécrose à partir du 56e jour de l'infestation fasciolienne.

La hauteur moyenne de l'épithélium lamellaire chute de 14,4-15,8 µm à 11,2-11,8 µm lors de chaque vague de nécrose et s'accroît jusqu'aux premières valeurs au cours de chaque reconstitution. Le nombre moyen de cellules (sur 0,1 mm de longueur d'épithélium) est de 16 ou 17 lors de la première vague de nécrose et passe ensuite à 19,6-20,5 lors des cycles ultérieurs (résultats non représentés).

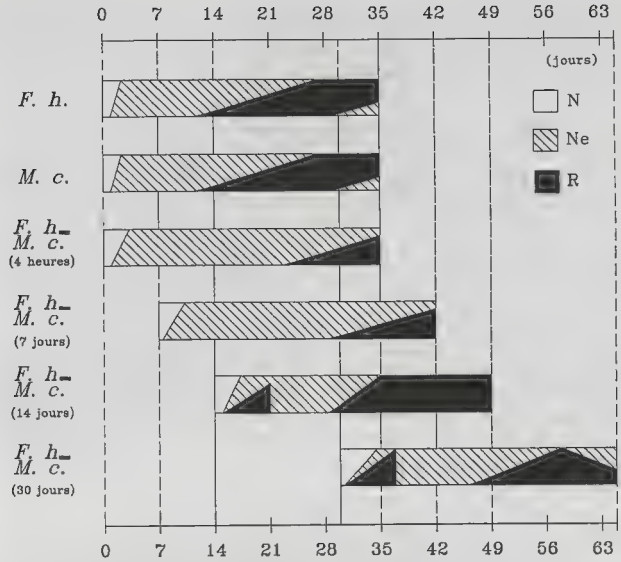


Fig. 4 - Evolution des aspects structuraux dans le rein chez les limnées infestées en fonction de la durée de l'expérience. Abréviations. *F. h.*: infestation simple par *F. hepatica*. *M. c.*: infestation simple par *M. capillaris*. *F. h.–M. c.*: infestation double par *F. hepatica* et *M. capillaris*. N: développement normal de la glande. Ne: nécrose de l'épithélium. R: reconstitution épithéliale.

DISCUSSION

La chronologie de la nécrose épithéliale et de la reconstitution dans les infestations simples est conforme aux descriptions rapportées par plusieurs auteurs chez des Limnées tronquées de même stade, infestées par *F. hepatica* ou par *M. capillaris* (RONDELAUD et BARTHE, 1983; HOURDIN, 1990).

La revue de la littérature montre l'existence d'un manque dans les connaissances sur l'histopathologie des Mollusques soumis à des infestations doubles (SPARKS, 1985). C'est la raison pour laquelle la comparaison des résultats sera effectuée avec les données parues chez les limnées infestées par *F. hepatica*.

Le développement d'une lésion mixte dans la glande digestive et la gonade de certains groupes avec une infestation double pose le problème de sa signification car les processus de nécrose et de reconstitution sont en général bien tranchés et limités dans le temps pour les infestations simples. Ce résultat nouveau n'a pas encore reçu d'explication satisfaisante. L'hypothèse la plus valable serait d'admettre le développement de deux cycles de nécrose-reconstitution chez les limnées avec une infestation double, chacun cycle étant déclenché par l'agression d'un parasite. Ces deux cycles se superposeraient lorsque l'intervalle entre les expositions est de courte durée; ils seraient décalés dans le cas d'un intervalle plus long, avec le développement de la nouvelle phase de nécrose sur une reconstitution épithéliale en cours.

Les hauteurs plus faibles, relevées dans la glande digestive et la gonade chez les limnées avec une infestation double, peuvent s'expliquer par l'hypothèse de RONDELAUD et al. (1987) formulée pour *L. glabra*: les cycles successifs de nécrose et de reconstitution avec hyperplasie pourraient entraîner une atrophie progressive de l'épithélium et sa disparition finale, laissant à nu la membrane basale. Cette hypothèse expliquerait également l'hyperplasie cellulaire et ses variations quantitatives constatées après la première phase de nécrose.

L'absence de lésion mixte au niveau du rein peut s'expliquer par:

- a) la durée relativement courte d'un cycle de nécrose-reconstitution dans cet organe (moins de 21 jours en moyenne) alors que la période est beaucoup plus longue dans la glande digestive et la gonade;

- b) l'expulsion rapide des concrétions et des cellules en nécrose dans la lumière du rein, ce qui ne permet pas le développement simultané de deux processus au niveau de l'épithélium lamellaire.

Ces deux faits expliquent également les valeurs relevées pour la hauteur et le nombre des cellules épithéliales rénales.

Les résultats obtenus dans les infestations doubles méritent d'être confirmés dans le cadre d'une étude élargie en utilisant d'autres nématodes se développant dans le pied des mollusques comme *Neostrongylus linearis* Marotel (ROJO-VAZQUEZ et CORDERO DEL CAMPILLO, 1974; URBAN, 1980; HOURDIN et al., 1990). Nous nous proposons d'aborder ce point dans un travail ultérieur.

BOUIX-BUSSON, D., RONDELAUD, D. et BARTHE, D., 1985. L'infestation de *Lymnaea glabra* Muller par *Fasciola hepatica* L. II. Etude comparative des lésions présentées par la gonade et la glande de l'albumine chez de jeunes Mollusques. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, **60**, 587-599.

HOURDIN, P., 1990. Etude de relations entre le Mollusque *Lymnaea truncatula* Muller et plusieurs parasites (*Fasciola hepatica* L., *Muellerius capillaris* Muller, *Neostrongylus linearis* Marotel) au cours d'infestations mono- et bispécifiques. Thèse Doct. Univ. Limoges, 1990, n° 21, 178 p.

HOURDIN, P., RONDELAUD, D. et CABARET, J., 1990. Interactions entre *Fasciola hepatica* L. et *Muellerius capillaris* Muller chez le Mollusque *Lymnaea truncatula* Müller. *Bull. Soc Fr. Parasitol.*, 1990a, **8**, 111-118.

OLLERENSHAW, C.B., 1971. Some observations on the epidemiology of fascioliasis in relation to the timing of molluscicide applications in the control of the disease. *Vet. Rec.*, **88**, 152-164.

ROJO-VAZQUEZ, F.A. et CORDERO DEL CAMPILLO, M., 1974. Le cycle biologique de *Neostrongylus linearis* (Marotel, 1913) Gebauer, 1932. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, **49**, 685-699.

RONDELAUD, D. et BARTHE, D., 1983. Les modifications structurales du rein chez *Lymnaea truncatula* Muller infestée par *Fasciola hepatica* L. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, **58**, 109-116.

RONDELAUD, D., BOUIX-BUSSON, D. et BARTHE, D., 1987. A perivisceral encapsulation process in *Lymnaea glabra* infected by *Fasciola hepatica*. *J. Invertebr. Pathol.*, **49**, 124-126.

SPARKS, A.K., 1985. Synopsis of invertebrate pathology, exclusive of insects. Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, 423 p.

URBAN, E., 1980. Studies on lung nematodes (*Protostrongylidae*, *Dictyocaulidae*) in sheep of the Podhale region, Tatra Highlands. II. Intermediate hosts of *Protostrongylidae*. *Acta Parasitol. Pol.*, **26**, 63-74.

Société Française de Malacologie
ASPECTS RÉCENTS DE LA BIOLOGIE DES MOLLUSQUES
Ifremer, Actes de Colloques, no. 13, 1992, p. 167-174

16

LA REACTION AMIBOCYTAIRE CIRCULANTE ET LE TISSU PRODUCTEUR CHEZ QUATRE ESPECES DE LIMNEES LORS D'UNE INFESTATION PAR *FASCIOLA HEPATICA* L.

SINDOU P., RONDELAUD D.et BARTHE D.

Faculté de Médecine, 2, rue du Docteur-Raymond-Marcland, 87025 LIMOGES Cédex

RESUME : L'intensité de la réaction amibocytaire et les aspects structuraux du tissu producteur ont été étudiés chez quatre espèces de limnées (*Lymnaea glabra, L.palustris, L.p.ovata, L.truncatula*) et chez quatre types d'individus par espèce (nouveau-nés, mollusques de 1 mm de hauteur, 2 mm ou de 4 à 6 mm). Les amibocytes circulants sont peu nombreux ou absents chez les nouveau-nés. Leur nombre est faible ou assez élevé chez la plupart des juvéniles et des adultes ; il est élevé chez les autres. Le tissu producteur peut avoir un développement normal, une fibrose ou une prolifération des amibocytes, parfois associée à la lésion précédente ; des rédies vivantes peuvent s'observer à la place du tissu. La fibrose et la prolifération sont assez fréquentes dans les différents groupes (de 8 à 66% pour chaque aspect), que l'infestation soit évolutive ou abortive ; les fréquences de ces aspects n'ont pas de relation avec la taille des limnées (mesurée lors de l'exposition aux miracidiums).

Mots clés : amibocytes, *Fasciola hepatica, Lymnaea* sp., tissu amibocytaire

THE CIRCULATING AMOEBOCYTIC REACTION AND THE PRODUCING TISSUE IN FOUR SPECIES OF *LYMNAEA* INFECTED BY *FASCIOLA HEPATICA* L.

ABSTRACT : *The intensity of the circulating amoebocytic reaction and the structural aspects of the producing tissue have been studied in four species of Lymnaea (*L.glabra, L.palustris, L.p.ovata, L.truncatula*) and in four age groups per species (new-borns, 1,2, and 4 to 6 mm high snails). Circulating amoebocytes were few in number, or absent in new-borns ; their number was low or high enough in most young and adult snails, and high in the others. The producing tissue could have a normal development, a fibrosis, or a proliferation of amoebocytes, sometimes associated to fibrosis ; living rediae could well in its place. Fibrosis and proliferation were frequent enough in the different group (from 8 to 66% for each aspect), whether the infection was evolutive or abortive ; the frequency of both aspects did not depend on snail size measured at miracidial exposure.*

Keywords : amoebocyte, amoebocyte-producing tissue, *Fasciola hepatica, Lymnaea* sp.

INTRODUCTION

Le but de nos recherches est de déterminer si les lésions tissulaires induites par le développement de *Fasciola hepatica* L. se retrouvent chez toutes les espèces de limnées lors d'une infestation monomiracidienne individuelle, ou encore s'il existe des atteintes particulières pour une espèce donnée. Pour répondre à cette question, nous nous sommes adressés à quatre espèces de limnées (*Lymnaea glabra* Müller, *L. palustris* Muller, *L. peregra ovata* Draparnaud, *L. truncatula* Müller).

Une note antérieure révèle que les lésions de la glande digestive et de la gonade sont communes aux espèces de limnées. Il en est de même pour celles du rein, à l'exception de l'oedème qui paraît spécifique de *L. glabra* (SINDOU et al., 1990).

La présente note complète ces premiers travaux en rapportant les résultats d'une étude comparative sur la réaction amibocytaire circulante et le tissu producteur chez ces quatre espèces de limnées infestées.

MATERIEL ET METHODES

1. Protocole expérimental

La population de *L. palustris* utilisée dans le cadre de cette expérience vit dans une mare à Tersannes (Haute-Vienne). Les trois autres espèces proviennent du département de l'Indre et vivent dans des fossés de route sur les communes de Migné et Nuret-le-Ferron (*L. glabra*, *L. truncatula*) ou encore dans un ruisseau à Thenay (*L. p. ovata*).

Quatre stades de vie sont considérés pour chaque espèce: a) des nouveau-nés (0,5 à 0,75 mm de hauteur), b) des juvéniles de 1 mm de hauteur, c) des juvéniles de 2 mm, et d) des adultes de 4 mm de hauteur (*L. truncatula*) ou de 5-6 mm pour les trois autres espèces.

Les Mollusques sont soumis à des infestations monomiracidiennes individuelles pendant 4 heures à 20° C. Ils sont ensuite élevés dans des aquariums couverts, en circuit fermé à raison de 10 individus par dm^3 d'eau. Les survivants sont tous sacrifiés au 45e jour postexposition. La technique d'élevage des Mollusques et la méthode d'exposition aux miracidiums ont déjà été décrites (SINDOU et al., 1986).

Des témoins ont été constitués à raison de 20 individus par espèce et par stade de vie. Les Mollusques sont élevés dans les mêmes conditions et sacrifiés selon le même protocole.

Les animaux destinés au sacrifice sont plongés dans du liquide de Bouin et leur coquilles est détruite aussitôt sous le stéréomicroscope. Des coupes sériées de 5 µm d'épaisseur ont été réalisées; elles sont colorées par l'hématoxyline de Harris-trichrome de Gabe modifié.

2. Paramètres étudiés

La densité des amibocytes circulants a été appréciée au niveau de l'extrémité du tortillon (entre les tubules digestifs et la paroi externe) selon une échelle d'indices compris entre 0 (absence de cellules) et 5 (présence d'une nappe dense d'amibocytes) (RONDELAUD et BARTHE, 1980).

Cinq aspects structuraux ont été reconnus au niveau du tissu producteur: a) un aspect normal, b) une prolifération des amibocytes, c) une fibrose simple, d) la coexistence des deux processus précédents à des degrés variables, et e) la présence de parasites (sporocyste, rédies) à l'emplacement du tissu. Ces aspects ont déjà été décrits (RONDELAUD et BARTHE, 1981; BUSSON et al., 1985).

La fréquence de chaque indice d'abondance et celle de chaque aspect structural sont calculées en fonction de l'espèce de la limnée, du stade de vie et du type de l'infestation fasciolienne.

RESULTATS

L'observation histologique montre la présence de Mollusques avec des parasites en vie (avec une infestation évolutive: à IE) et de limnées avec une infestation abortive (à IA) (BUSSON et al., 1985). Le tableau I récapitule le nombre d'individus dans les 16 groupes exposés aux miracidiums.

Hauteur de la coquille (mm)	Nombre de limnées	Espèces des Mollusques			
		L. glabra	*L. palustris*	*L. p. ovata*	*L. truncatula*
N (0,5/0,75)	au départ	57	126	150	950
	survivantes	31	93	76	32
	IA	22	36	76	25
	IE	9	57	-	7
1	au départ	90	105	84	400
	survivantes	29	81	21	32
	IA	29	81	3	8
	IE	-	-	18	24
2	au départ	100	78	61	80
	survivantes	77	37	34	28
	IA	37	37	4	26
	IE	40	-	30	2
4/6	au départ	60	60	60	115
	survivantes	46	32	33	31
	IA	46	32	33	18
	IE	-	-	-	13

Tableau I. Le nombre de limnées dans les seize groupes exposés aux miracidiums. IA: mollusques avec une infestation abortive. IE: limnées avec une infestation évolutive. N: nouveau-nés.

1. Réaction amibocytaire circulante

Elle est nulle chez les témoins, quelles que soient l'espèce de la limnée et la hauteur de la coquille.

Indice d'abondance	Hauteur de la coquille (mm)	Fréquence des indices d'abondance							
		L. glabra		*L. palustris*		*L. p. ovata*		*L. truncatula*	
		IA	IE	IA	IE	IA	IE	IA	IE
0	N	100	100	0	0	100	-	100	100
		Autres classes de taille: 0 %							
	N	0	0	75	72	0	-	0	0
	1	93	-	75	-	100	100	62,5	8
1	2	70	67,5	70	-	75	73	61,5	0
	4/6	91,3	-	37,5	-	63,6	-	100	61,5
	N	0	0	25	28	0	-	0	0
	1	7	-	25	-	0	0	0	0
2	2	30	32,5	24	-	25	27	23	50
	4/6	8,7	-	43,7	-	24,2	-	0	38,5
3	2	0	0	6	-	0	0	15,5	50
	4/6	0	-	0	-	12,1	-	0	0
		Autres classes de taille: 0 %							
4	1	0	-	0	-	0	0	25	67
	4/6	0	-	18,8	-	0	-	0	0
		Autres classes de taille: 0 %							
5	1	0	-	0	-	0	0	12,5	25
		Autres classes de taille: 0 %							

Tableau II. La fréquence des indices d'abondance pour la réaction amibocytaire circulante chez des limnées avec une infestation abortive (IA) ou des parasites en vie (IE). N: nouveau-nés. -: absence de Mollusques dans le groupe concerné.

Le tableau II indique les fréquences en fonction des indices dans les groupes exposés aux miracidiums:

- Nouveau-nés. Il n'y a pas d'amibocytes circulants chez trois espèces. Ceux de *L. palustris* sont rares ou peu nombreux (indices 1 et 2).

- Juvéniles de 1 mm. La plupart des limnées ont de rares amibocytes et la fréquence de l'indice 1 est variable, de 8 % (*L. truncatula*, IE) à 100 % (*L. p. ovata*). L'indice 2 se retrouve chez les *L. glabra* à IA (7 %) et *L. palustris* (25 %). La réaction cellulaire est, par contre, forte (indices 4 et 5) chez *L. truncatula* (de 12 à 67 %).

- Juvéniles de 2 mm. La fréquence de l'indice 1 est élevée chez les quatre espèces (de 61 à 75 %), à l'exception des *L. truncatula* à IE où elle est nulle. Celle de l'indice 2 oscille entre 23 et 50 %. L'indice 3 est rare chez *L. palustris* (6 %) et plus fré-

quent chez *L. truncatula* (15 et 50 %).

- Adultes. Les amibocytes sont rares dans la plupart des cas et la fréquence de l'indice 1 va de 37 à 100 %. L'indice 2 a une fréquence comprise entre 8 et 45 %. Les autres indices sont plus rares (12 % pour l'indice 3 chez *L. p. ovata* à IE, 18 % chez *L. palustris*).

Nous n'avons pas observé de granulomes chez ces espèces.

2. Tissu amibocytaire

Les témoins ont tous un tissu avec un développement normal. Les aspects structuraux sont plus variables chez les limnées exposées aux miracidiums et le tableau III précise les fréquences pour chaque aspect dans les 16 groupes de Mollusques:

Aspect structural	Hauteur de la coquille (mm)	Fréquence des aspects structuraux							
		L. glabra		*L. palustris*		*L. p. ovata*		*L. truncatula*	
		IA	IE	IA	IE	IA	IE	IA	IE
Aspect normal	N	22,7	66,7	16,7	10,5	34,2	-	24	43
	1	58,6	-	33,3	-	33,3	33,3	25	33,3
	2	40,5	62,5	8,1	-	50	26,7	38,4	50
	4/6	26,1	-	6,2	-	54,6	-	66,7	0
Aspect prolifératif	N	0	0	8,3	73,7	6,6	-	4	0
	1	6,9	-	27,1	-	0	22,2	12,5	12,5
	2	0	0	24,3	-	33,3[1]	27,8[1]	0	0
	4/6	6,5	-	25	-	18,2	-	11,1	23,1
Fibrose	N	59,1	33,3	8,3	10,5	42,1	-	52	43
	1	34,5	-	26	-	33,3	11,1	12,5	33,3
	2	51,4	35	18,9	-	50	40	34,6	50
	4/6	45,7	-	31,2	-	12,1	-	11,1	53,8
Prolifération avec fibrose	N	18,2	0	66,7	5,3	17,1	-	20	0
	1	0	-	13,6	-	0	0	50	20,9
	2	8,1	2,5	48,7	-	0	20	19,3	0
	4/6	21,7	-	37,5	-	15,1	-	11,1	23,1
Présence de parasites	N	0	0	0	0	0	-	0	14
	1	0	-	0	-	0	5,6	0	0
	2	0	0	0	-	0	13,3	-	-
	4/6	0	-	0	-	0	-	0	0

[1] Tissu dépeuplé en amibocytes.

Tableau III. La fréquence des aspects structuraux dans le tissu amibocytaire des limnées avec une infestation abortive (IA) ou des parasites en vie (IE). N: nouveau-nés. -: absence de Mollusques dans le groupe concerné.

- Les différentes séries montrent toutes la présence de tissus avec un développement normal, à l'exception des *L. truncatula* adultes à IE. La fréquence de cet aspect est comprise entre 6 et 66 %.

- L'aspect prolifératif du tissu correspond à une multiplication isolée des amibocytes souches. Sa fréquence est nulle ou faible chez *L. glabra* et *L. truncatula*. Les pourcentages sont plus élevés chez les autres limnées (de 0 à 33 %) avec un maximum de 73 % chez les nouveau-nés de *L. palustris* à 18. Les *L. p. ovata* de 2 mm ont montré une variante de cet aspect avec un tissu développé, totalement dépeuplé en amibocytes (33 et 27 %).

- La fibrose isolée du tissu amibocytaire peut être partielle ou totale. Elle se rencontre dans les différentes séries, avec une fréquence faible chez *L. palustris* (de 8 à 31 %), plus élevée chez les trois autres espèces (de 11 à 53 % chez *L. p. ovata* et *L. truncatula*, de 33 à 59 % chez *L. glabra*).

- Les deux aspects précédents peuvent coexister dans le tissu avec une dominance de l'un sur l'autre. Cette lésion particulière touche les divers lots de *L. palustris* (de 5 à 66 %). Chez les trois autres espèces, la fréquence est nulle ou plus faible (de 0 à 21 % chez *L. glabra* et *L. p. ovata*, de 0 à 50 % chez *L. truncatula*).

- Des sporocystes et/ou de jeunes rédies s'observent dans le tissu des *L. p. ovata* de 1 et 2 mm (5 et 13 %), et dans celui des nouveau-nés de *L. truncatula*.

DISCUSSION

L'accroissement du nombre des amibocytes dans les espaces interviscéraux du Mollusque lors d'une infestation parasitaire est un processus que de nombreux auteurs ont rapporté chez *Biomphalaria glabrata* Say (LIE et HEYNEMAN, 1976; LIE et al., 1980), chez diverses espèces de *Lymnaea* (LOKER, 1979; RONDELAUD et BARTHE, 1980, 1981; VAN DER KNAAP et al., 1987) ou encore chez *Marisa cornuarietis* L. (YOUSIF et al., 1980).

Les résultats sur la réaction amibocytaire chez les nouveau-nés sont en accord avec les observations de STUMPF et GILBERTSON (1978) chez *B. glabrata*, de DIKKEBOOM et al. (1984) chez *L. stagnalis* L. ou encore de BOUIX-BUSSON et al. (1985), RONDELAUD et al. (1988) chez *L. glabra* et *L. truncatula*. DIKKEBOOM et al. pensent que la composante cellulaire du système de défense serait, chez de jeunes *L. stagnalis*, en train de se développer. RONDELAUD et al. admettent que le tissu amibocytaire des jeunes *L. glabra* et *L. truncatula* ne se développerait qu'à partir d'une hauteur de coquille déterminée (à partir de 1 ou 2 mm chez les deux espèces précitées).

L'intensité de la réaction, observée chez les autres juvéniles et les préadultes/adultes, indique que le développement des *parthenitae* ou la dégénérescence des sporocystes ne sont pas les seuls facteurs à l'origine de cette prolifération cellulaire. Des agents d'un autre ordre pourraient agir en synergie avec les facteurs fasciolïens précités. L'un de ces agents (co-facteurs) pourrait être la présence d'un iridovirus qui se multiplie aux dépens des amibocytes chez *L. truncatula* (BARTHE et al., 1984). Des études complémentaires sont donc nécessaires pour déterminer la nature de ces co-facteurs et leur mécanisme d'action.

L'aspect prolifératif du tissu concorde avec les observations de RACHFORD (1976) chez *L. palustris* Muller, de LOKER (1979) chez *L. catascopium* Adams et de RONDELAUD et BARTHE (1981) chez *L. truncatula*. La prolifération amibocytaire réduite constatée en présence d'une fibrose et la fibrose elle-même sont également en accord avec les descriptions de MONTEIL et al. (1985) chez la Limnée tronquée.

Des parasites en vie peuvent être présents à l'emplacement du tissu. La littérature ne mentionne pas de cas identiques chez les autres espèces de Mollusques. Nous n'avons pas trouvé d'explication valable pour cet aspect. Tout au plus, peut-on admettre que l'arrivée des parasites dans le tissu se ferait par voie hémolymphatique comme l'indique BARBER (1962) chez *L. columella* Say.

BARBER, I.W., 1962. The pathology produced in the snail *Lymnaea columella* Say 1817, by the larval stages of *Fasciola hepatica* L., 1758. Ph. D. Thesis, Ann Arbor (U.S.A.), 159 p.

BARTHE, D., RONDELAUD, D., FAUCHER, Y. et VAGO, C., 1984. Infection virale chez le Mollusque Pulmoné *Lymnaea truncatula* Müller. *C. R. Acad. Sci., D*, 298, 513-515.

BOUIX-BUSSON, D., RONDELAUD, D. et BARTHE, D., 1985. L'infestation de *Lymnaea glabra* Muller par *Fasciola hepatica* L. I. Etude des lésions de la glande digestive et du rein chez de jeunes Mollusques. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 6, 571-585.

DIKKEBOOM, R., VAN DER KNAAP, W.P.W., MEULEMAN, E.A. et SMINIA, T., 1984. Differences between blood cells of juvenile and adult specimens of the pond snail *Lymnaea stagnalis*. *Cell Tissue Res.*, 238, 43-47.

LIE, K.J. et HEYNEMAN, D., 1976. Studies on resistance in snails. 3. Tissue reactions to *Echinostoma lindoense* sporocysts in sensitized and resensitized *Biomphalaria glabrata*. *J. Parasitol.*, 62, 51-58.

LIE, K.J., JEONG, K.H. et HEYNEMAN, D., 1980. Tissue reactions induced by *Schistosoma mansoni* in *Biomphalaria glabrata*. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 74, 157-166.

LOKER, E.S., 1979. Pathology and host responses induced by *Schistosoma douthitti* in the freshwater snail *Lymnaea catascopium*. *J. Invertebr. Pathol.*, 33, 265-273.

MONTEIL, J.F., RONDELAUD, D. et BARTHE, D., 1985. L'organe amibocytaire de *Lymnaea truncatula* Muller infestée par *Fasciola hepatica* L. Evolution des aspects structuraux chez les deux générations annuelles du Mollusque. *Bull. Soc. Fr. Parasitol.*, 3, 99-104.

RACHFORD, F.W., 1976. Host-parasite relationship of *Angiostrongylus cantonensis* in *Lymnaea palustris*. II. Histopathology. *Exp. Parasitol.*, 39, 382-392.

RONDELAUD, D. et BARTHE, D., 1980. Etude descriptive d'une réaction amibocytaire chez *Lymnaea truncatula* Muller infestée par *Fasciola hepatica* L. *Z. Parasitenkd.*, 61, 187-196.

RONDELAUD, D. et BARTHE, D., 1981. The development of the amoebocyte-producing organ in *Lymnaea truncatula* Muller infected by *Fasciola hepatica* L. *Z. Parasitenkd.*, 65, 341-351.

RONDELAUD, D., BOUIX-BUSSON, D. et BARTHE, D., 1988. Relationship between shell height and a proliferative response of the amoebocyte-producing organ in two species of *Lymnaea* (*Gastropoda: Mollusca*) infected by *Fasciola hepatica*. *J. Invertebr. Pathol.*, 51, 294-295.

SINDOU, P., RONDELAUD, D. et BARTHE, D., 1986. Données histopathologiques au niveau du rein et de l'organe amibocytaire chez de jeunes *Lymnaea palustris* Müller infestées par *Fasciola hepatica* L. *Bull. Soc. Fr. Parasitol.*, 4, 255-260.

SINDOU, P., RONDELAUD, D. et BARTHE, D., 1990. *Fasciola hepatica* L.: étude comparative de la pathologie viscérale chez eix espèces de limnées soumises dès leur naissance à des infestations monomiracidiennes individuelles. *Bull. Soc. Zool. Fr.* (sous presse).

STUMPF, J.L. et GILBERTSON, D.E., 1978. Hemocytes of *Biomphalaria glabrata* factors affecting variability. *J. Invertebr. Pathol.*, 32, 177-181.

VAN DER KNAAP, W.P.M., MEULEMAN, E.A. et SMINIA, T., 1987. Alterations in the internal defence system of the pond snail *Lymnaea stagnalis* induced by infection with the schistosome *Trichobilharzia ocellata*. *Parasitol. Res.*, 73, 57-65.

YOUSIF, F., BLAHSER, S. et LAMMLER, G., 1980. The cellular responses in *Marisa cornuarietis* experimentally infected with *Angiostrongylus cantonensis*. *Z. Parasitenkd.*, 62, 179-190.

POSTERS

1 Localisation ultrastructurale d'organites lysosomaux dans des phagocytes de Mollusques Bivalves 177
M.Auffret

2 Fixation d'un anticorps anti-lysozyme dans des cellules de Mollusques Bivalves 178
M.Auffret, M.Diouris et *A. Herry*

3 Localisation immunohistochimique de peptides apparentes aux hormones de vertebrés chez *Pecten maximus* 179
A.Donval

4 Caractéristiques ultrastructurales du spermatozoïde de la coquille Saint-Jacques, *Pecten maximus* (Mollusque, Bivalve) 180
G.Dorange et *M. Le Pennec*

5 Premières études sur les cellules neurosecrétrices de *Lymnaea truncatula* Müller (Mollusque Gastéropode Pulmoné). Les effets d'une infestation par *Fasciola hepatica* L. 181
F. Esclaire et *D. Rondelaud*

6 Réponses des Bivalves de l'Atlantique Nord-Est aux changements climatiques 182
M.Glémarec

7 Stades de destruction des coquilles de *Patella* (Mollusque Gastéropode) sur l'estran et en milieu terrestre 183
Y.Gruet

8 La malacofaune marine d'un site néolithique de l'île d'Oléron (Charente-Maritime) : questions posées au biologiste 184
Y.Gruet et *L.Laporte*

9 Quelques peuplements malacologiques ayant contribué au comblements du marais poitevin actuel (Vendée et Charente-Maritime) 185
Y.Gruet et *P.G.Sauriau*

10 Les nodules rénaux de *Lymnaea truncatula* Müller
A propos de quelques observations lors d'infestation simples et doubles du mollusque par plusieurs parasites (*Fasciola hepatica* L., *Muellerius capillaris* Müller, *Neostrongylus linearis* Marotel) 186

P.Hourdin et *D.Rondelaud*

11 Etude expérimentale préliminaire sur les échanges gazeux chez *Pinna nobilis* (L.) 187

N.Vicente, A.Riva et *A.Butler*

1

LOCALISATION ULTRASTRUCTURALE D'ORGANITES LYSOSOMAUX DANS DES PHAGOCYTES DE MOLLUSQUES BIVALVES

AUFFRET M.

Laboratoire de Biologie Marine, Faculté des Sciences, Université de Bretagne Occidentale, 29287 BREST Cédex

Les mollusques bivalves possèdent plusieurs types d'hémocytes, impliqués dans les mécanismes de défense interne et autres fonctions physiologiques. Des études en conditions pathologiques et expérimentales ont montré leurs capacités micro - et macrophagiques. Cependant, les mécanismes de la digestion intracellulaire ne sont encore que partiellement connus chez ces organismes. Une étude de l'appareil lysosomal des hémocytes a donc été entreprise chez plusieurs espèces, par localisation ultrastructurale d'hydrolases. Une forte activité ß-glycérophosphatasique acide a été observée dans les granules cytoplasmiques des granulocytes. Une étude antérieure avait montré que ces granules peuvent contenir du matériel phagocyté. Ces résultats montrent que la digestion intracellulaire se déroule dans ces organites. L'activité de cette même enzyme a également été observée dans l'appareil de Golgi et dans les vésicules de sécrétion golgiennes, révélant le rôle de cette structure dans la formation des granules. L'hétérogénéité de la distribution de cette hydrolase dans les types cellulaires suggère l'existence de particularités fonctionnelles.

Mots clés : lysosome, hydrolase, MET, hémocyte, mollusque bivalve

FINE CYTOCHEMICAL LOCALIZATION OF LYSOSOMAL ORGANELLES IN PHAGOCYTIC CELLS OF BIVALVE MOLLUSCS

Bivalve molluscs possess several types of hemolymph cells (hemocytes), involved in internal defense and other physiological functions. Studies in pathological and experimental conditions have shown their micro- and macrophagic ability. However, the mechanisms of intracellular digestion are incompletely known in these organisms. The lysosomal apparatus of hemocytes was therefore investigated in several species by hydrolase localization with the electron microscope. The cytoplasmic granules of granulocytes displayed a strong acid ß-glycerophosphatase activity. Previous observations had shown that these granules may contain phagocytized material. This indicates that intracellular digestion is achieved in these organelles. Acid ß-glycerophosphatase activity was also observed in the Golgi apparatus and adjacent secretory vesicles revealing a role in granule formation. The heterogeneity in hydrolase distribution among the cell types suggested functional peculiarities.

Keywords : lysosome, hydrolase, TEM, hemocyte, bivalve mollusc

2

FIXATION D'UN ANTICORPS ANTI-LYSOZYME DANS DES CELLULES DE MOLLUSQUES BIVALVES

AUFFRET M.[1], DIOURIS M.[2] et HERRY A.[1]

[1] *Laboratoire de Biologie marine, Faculté des Sciences, 29287 BREST Cédex*

[2] *Laboratoire de Physiologie végétale, Faculté des Sciences, Université de Bretagne Occidentale, 29287 BREST Cédex.*

Un anticorps polyclonal de lapin anti-lysozyme humain (Dako) a été appliqué sur des coupes histologiques de mollusques bivalves puis révélé par un anticorps secondaire de souris anti-IgG de lapin couplé à de la fluorescéine, pour localiser le lysozyme à l'échelle cellulaire dans des tissus où son activité avait été préalablement détectée par une méthode enzymatique. Le cytoplasme des cellules épithéliales du tégument recouvrant la masse viscérale est marqué, ce qui est compatible avec la distribution intracellulaire de cette enzyme. Le cytoplasme des bactériocytes et des branchies du Lucinidé *Lucinella divaricata* est également marqué, ce qui suggère une activité antibactérienne dans ces cellules. Les différents contrôles effectués indiquent qu'il s'agit d'une fixation préférentielle de l'anticorps primaire, mais sa spécificité devra cependant être vérifiée par des techniques d'électrophorèse (Western blot).

Mots clés : immunomarquage, lysozyme, mollusque bivalve, bactériocyte

LABELLING OF BIVALVE MOLLUSCS CELLS WITH AN ANTI LYSOZYME ANTIBODY

A polyclonal rabbit anti-human lysozyme (Dako) was applied on histological sections from bivalve mollusc and revealed with a mouse anti-rabbit IgG fluorescein conjugated antibody to localise cellular lysozyme in tissues where its activity had previously detected by enzymatic techniques. Labelling occurred in the cytoplasm of epithelial cells covering the body. This is in agreement with the intracellular distribution of this enzyme. In the Lucinid Lucinella divaricata *gills, the cytoplasm of bacteriocytes was also labelled. This suggests that antibacterial activity occured in these cells. Control sections indicade that fluorescence was a consequence of true primary antibody fixation. However, its specificity should be verified by electrophoretical techniques (Western blot).*

Keywords : immunolabelling, lysozyme, bivalve mollusc, bacteriocyte

3

LOCALISATION IMMUNOHISTO CHIMIQUE DE PEPTIDES APPARENTES AUX HORMONES DE VERTEBRES CHEZ *PECTEN MAXIMUS*

DONVAL A.

Laboratoire de Biologie Marine, Faculté des Sciences, Université de Bretagne Occidentale, 29287 BREST Cédex

Des substances régulatrices apparentées aux hormones de vertébrés ont été recherchées par des techniques immunohistochimiques chez le juvénile de *Pecten maximus*. L'utilisation d'anticorps dirigés contre des hormones de vertébrés a permis de détecter des peptides de type gastrine/CCK like, glucagon like, insuline like et somatostatine like dans des cellules neurosécrétrices des ganglions nerveux. D'autres hormones like telles que la bombésine et le peptide intestinal vasoactive sont localisées dans des cellules de l'épithélium intestinal.

Mots clés : cellules neurosécrétrices, "hormones-like", immunohistochimie, juvénile, *Pecten maximus*

IMMUNOHISTOCHEMICAL LOCATION OF "HORMONAL SUBSTANCES" IN *PECTEN MAXIMUS*

Substances related to vertebrate peptidic hormones have been searched by immunohistochemical methods in Pecten maximus. *Neurosecretory cells have been detected in the nervous ganglia with antisera raised against vertebrate hormones, gastrin/CCK like, glucagon like, insuline like, somatostatine like. Other gastro-intestinal hormones like are localized in some cells of the gut epithelium : bombesine and vasoactive intestinal peptide.*

Keywords : neurosecretory cells, "hormones like", immunohistochemical methods, juvenile, *Pecten maximus*

4

CARACTERISTIQUES ULTRASTRUCTURALES DU SPERMATOZOIDE DE LA COQUILLE SAINT-JACQUES, *PECTEN MAXIMUS* (MOLLUSQUE, BIVALVE)

DORANGE G. et LE PENNEC M.

Laboratoire de Biologie Marine, Faculté des Sciences, Université de Bretagne Occidentale, 29287 BREST Cédex

Le spermatozoïde de *Pecten maximus* présente des traits structuraux strictement conformes au type primitif général que l'on rencontre chez des animaux à fécondation externe ou qui émettent leur sperme dans l'eau. Parmi les caractéristiques de cette catégorie de spermatozoïde, il possède un noyau de taille réduite. La pièce intermédiaire est similaire à celle observée chez de nombreuses espèces de Bivalves. Du glycogène est présent au niveau de cet élément. Mais le spermatozoïde de *P. maximus* possède aussi des caractéristiques qui lui sont propres : le court acrosome diffère par sa taille, sa forme, sa position, sa structure ou par une combinaison de ces divers éléments de celui de nombreux autres bivalves. Il paraît dépourvu de bâtonnet axial contrairement à de nombreux Mytilidae, Veneridae ou Ostreidae. Il est possible que ces particularités atteignent le niveau spécifique.

Mots clés : spermatozoïde, *Pecten maximus*, caractéristiques ultrastructurales

ULTRASTRUCTURAL CHARACTERISTICS OF SPERMATOZOON OF *PECTEN MAXIMUS* (MOLLUSCA, BIVALVIA)

The spermatozoon of Pecten maximus *is of the primitive type usually associated with species having external fertilization or emitting the sperm in the water. The size of the nucleus is reduced. The middle piece is similar to that reported for several Bivalves. It contains glycogen. But the spermatozoon of* P. maximus *exhibits its own ultrastructural characteristics : the short acrosome differs in size, shape, position and ultrastructure or by a combination of these from that of many bivalves. No axial rods was observed in contrast to several species of Mytilidae, Veneridae and Ostreidae. These originalities could go to the genus level.*

Keywords : spermatozoon, *Pecten maximus*, ultrastructural characteristics

5

PREMIERES ETUDES SUR LES CELLULES NEUROSECRETRICES DE *LYMNAEA TRUNCATULA* MÜLLER (MOLLUSQUE GASTEROPODE PULMONE). LES EFFETS D'UNE INFESTATION PAR *FASCIOLA HEPATICA* L.

ESCLAIRE F. et RONDELAUD D.

Faculté de Médecine, 2, Rue du Docteur-Raymond-Marchand, 87025 LIMOGES Cédex.

Les cellules neurosécrétrices de *Lymnaea truncatula* ont été étudiées par les méthodes à l'hématoxyline chromique-phloxine et du bleu alcian-jaune alcian chez des témoins et chez des individus soumis à une infestation fasciolienne pendant 42 jours à 20°C. Les cellules sont présentes dans tous les ganglions, sauf dans les buccaux. Elles sont réparties en cinq massifs dans le lobe dorsal de chaque ganglion cérébral ; elles sont dispersées, avec de faibles nombres, dans les deux autres lobes. La présence de l'infestation fasciolienne se traduit par une diminution nette du matériel neurosécrétoire au 21eme et 28eme jours postexposition. La charge granulaire se constitue au 42eme jour mais elle est généralement inférieure à celle notée chez les témoins.

Mots clés : cellules neurosécrétrices, *Lymnaea truncatual*, infestation, *Fasciola hepatica*

INITIAL STUDIES ON THE NEUROSCRETORY CELLS OF *LYMNAEA TRUNCATULA* MÜLLER (MOLLUSCA, GASTROPODA, PULMONATA). THE EFFECTS OF INFECTION BY *FASCIOLA HEPATICA* L.

The neurosecretory cells of Lymneaea truncatula *were studied by the chromic haematozylin-phoxin technique and the alcian blue-alcian yellow method in controls and in snails infected by* Fasciola hepatica *during 42 days at 20°C. The cells were observed in all the ganglia except in buccal masses. Histological observations of cerebral ganglia showed the presence i) of five clumps of cells in each dorsal lobe, and ii) of dispersed cells, with low numbers, in the other lobes. Development of fasciolid infection induced an important decrease of neurosecretory material at days 21 and 28 postexposure. The granular burden was reconstituted at day 42 but it was generally smaller than that noted in controls.*

Keywords : neurosecretory cells, *Lymnaea truncatula*, infection, *Fasciola hepatica*

6

REPONSES DES BIVALVES DE L'ATLANTIQUE NORD-EST AUX CHANGEMENTS CLIMATIQUES

GLEMAREC M.

Laboratoire d'Océanographie Biologique, Faculté des Sciences 29287 BREST Cédex

Selon certaines hypothèses, l'"effet serre" devrait se traduire vers 2050 par une augmentation de la température moyenne de 1,5° à 4,5°C. Quelles sont les réponses prévisibles des Bivalves ? Un tel exercice, si spéculatif qu'il soit, permet de faire le point sur la répartition des différents contingents zoogéographiques, sur les plateformes nord-est atlantiques. Après la dernière glaciation (18000 BP), ces plateformes émergées ont été petit à petit recolonisées tandis que la température moyenne des océans n'était que de 9°C inférieure à ce qu'elle est aujourd'hui. Un réchauffement de 2 à 4°C, en mois d'un siècle, peut donc apparaître comme un véritable cataclysme. Dans le premier scénario, où ce sont à la fois les températures hivernales et estivales qui augmentent parallèlement, c'est un accroissement de la diversité de 30% qui est prévisible aux latitudes moyennes. Dans le deuxième scénario, où les températures estivales s'élèvent et les températures hivernales s'abaissent, les impacts risquent d'être beaucoup plus importants. Par homologie avec de tels écarts de température actuellement sur les côtes de l'Atlantique ouest, on peut estimer que la baisse de diversité, pourrait être de l'ordre de 40% dans le Golfe de Gascogne.

Mots clés : réponses, mollusques bivalves, changements climatiques, Atlantique Nord-Est

NORD-EAST ATLANTIC BIVALVIA RESPONSES TO CLIMATIC CHANGES

By the year 2050 change of mean temperature by several degrees centigrades will have certainly impacts on the zoogeographical contigents of Bivalvia. Two scenari are presented. In both scenari, the summer temperature increases. In the first scenario, the winter temperature also increases, but in the second, the winter temperature remains the same or decreases In the first scenario, we can expect that the density can be higher than 30% than actual in the Bay of Biscaye. In the second, by comparing with the actual distribution on western-atlantic coasts, the diversity can be lower than 40%.

Keywords : responses, bivalves molluscs, climatic changes, Nord-East Atlantic

7

STADES DE DESTRUCTION DES COQUILLES DE *PATELLA* (MOLLUSQUE GASTEROPODE) SUR L'ESTRAN ET EN MILIEU TERRESTRE

GRUET Y.

Laboratoire de Biologie marine, 2 rue de la Houssinière, 44072 NANTES Cédex 03

Sur l'estran dans les laisses de haute mer ou en milieu terrestre, on constate une certaine convergence entre les formes de destruction de la coquille des *Patella*. En effet les fractures se réalisent le plus fréquemment au niveau des zones de "faiblesse", c'est-à-dire selon les stries concentriques de ralentissement de croissance. Mais des différences portent sur l'état d'usure de la coquille et sur les proportions relatives des différents types de morceaux. En milieu marin, en général, le polissage des coquilles est très important et les apex disparaissent sous l'effet de l'usure et des chocs. Pour certaines formes, en anneaux ou perforées, il peut se révéler difficile de séparer l'action anthropique de l'action naturelle.

Mots clés : destruction, coquille, *Patella*, estran, site néolithique

DESTRUCTION PHASES OF THE SHELLS OF *PATELLA* (MOLLUSCA GASTROPODA) ON THE BEACH AND IN A TERRESTRIAL SOIL

Samples of shells of Patella *have been found out of sea and also in the soil of a neolithic site. The different destruction phases have a form similar to the "rings". This form is related to the concentric stria of the shell which slacken its own growth. But some differences are made clear concerning the wear of shells and the various proportions of shell pieces. In maritime environment, the polishing of shells is generally very important and many tops of* Patella *disappear as they are weared and shaked up against pebbles and sand.*

Keywords : destruction, shell, *Patella*, intertidal zone, neolithic site

8

LA MALACOFAUNE MARINE D'UN SITE NEOLITHIQUE DE L'ILE D'OLERON (CHARENTE-MARITIME) : QUESTIONS POSEES AU BIOLOGISTE

GRUET Y.[1] et LAPORTE L.[2]

[1] *Laboratoire de Biologie marine, 2 rue de la Houssinière, 44072 NANTES Cédex 03*

[2] *197, Avenue Carnot, 17000 La Rochelle*

Toutes les espèces inventoriées dans la fouille d'un site néolithique existent encore actuellement dans le golfe de Gascogne. L'une, *Haliotis* a récemment disparue d'Oléron. Certaines comme *Patella* et *Monodonta lineata*, très abondantes, devaient servir de nourriture. D'autres comme *Nucella lapilus* n'ont pu servir qu'à l'artisanat de "perles". Parfois les deux utilisations auraient pu se succéder, comme par exemple pour les *Cardium* ? Le point ne pourra être fait qu'à la fin des analyses. En étudiant les biotopes des espèces actuelles, le biologiste peut indiquer où elles ont dû être prélevées : milieu meuble ou rocheux, milieu battu ou abrité, intertidal ou subtidal, etc. Selon l'usure des coquilles il peut aussi estimer si les coquillages ont été récoltés vivants (en place) ou morts (rejetés). La connaissance des biotopes possibles donne une idée des zones vraisemblablement prospectées par les préhistoriques et par conséquent des distances qu'ils ont pu parcourir. Bien entendu le biologiste doit tenir compte des variations relatives du niveau de la mer comme des variations climatiques. La biologie, notamment la croissance du mollusque s'inscrit dans sa coquille ce qui peut renseigner sur l'éventualité de collectes saisonnières et fournir indirectement des indications sur les paléotempératures ou salinités.

Mots clés : malacofaune, site néolithique, île d'Oléron, données écologiques

THE MARINE MALACOFAUNA OF A NEOLITHIC SITE IN THE OLERON ISLAND (CHARENTE-MARITIME) : QUESTIONS ASKED TO THE BIOLOGIST

The species which have been identified in this Neolithic site are still living along the Bay of Biscay coasts. One of them, Haliotis, *has recently disappeared from the Oleron Island. Some of them, as the very fruitful* Patella *and* Monodonta lineata, *have certainly been gathered and devoted to food. Others, as* Nucella lapillus, *have only been used to make pearls. And some others,* Cardium *for instance, could have been devoted at the same time to food and pearls. The study of the current biotal of the different species allows the biologist to indicate where the shells might have lived : rocky or sandy shores, sheltered or exposed shores, intertidal or subtidal environment. The knowledge of the possible biota is an indication of the areas of the prehistoric prospected. Of course, the biologist has to take into account the relative variations in the sea level and the climatic variations.*

Keywords : malacofauna, neolithic site, Oleron island, ecological data

9

QUELQUES PEUPLEMENTS MALACOLOGIQUES AYANT CONTRIBUE AUX COMBLEMENTS DU MARAIS POITEVIN ACTUEL (VENDEE ET CHARENTE-MARITIME)

GRUET Y. et SAURIAU P.G.

Laboratoire de Biologie marine, 2, rue de la Houssinière, 44072 NANTES Cédex 03

Quatre sondages ont été réalisés dans le Marais poitevin (Charron, Pied-Lizet, Maillezais) et des fragments de coquilles ont été récupérés, déterminés, dénombrés et pesés par espèces. L'analyse des diagrammes rangs-fréquences précise l'homogénéité et la diversité des associations malacologiques. L'analyse factorielle des correspondances sur les présences-absences met en évidence un gradient écologique allant des associations les plus marines et les plus profondes aux associations les plus superficielles et au domaine terrestre ou dulcicole. L'ordonnance des espèces suit ce même gradient. En substrat meuble, trois principaux peuplements ont contribué au comblement du marais. Le plus fréquent correspond aux estrans sablo-vaseux à *Cerastoderma edule*, *Scrobicularia plana*, *Abra ovata*, *Hydrobia ulvae*, etc. C'est la vase "fossilisée" ou "bri" à *Scrobicularia* et *Cardium* des géologues. La zone infralittorale et subtidale avec des peuplements à *Spisula subtruncata*, *Corbula gibba*, *Abra* (*alba* et *nitida*), etc. n'est représentée qu'à la base du sondage de Charron (ouest du marais). A l'opposé, à Maillezais un peuplement de "lagune salée" a été mis en évidence avec les espèces *Cerastoderma glaucum*, *Abra ovata*, *Hydrobia ventrosa*, *Rissoa membranacea*, etc. En substrat dur, les bancs d'huîtres (*Ostrea edulis*) participent pour une part non négligeable au comblement. Certains ont dû se développer en zone infralittorale (avec *Chlamys varia*, *Anomia ephippium*, *Gibbula cineraria*) ou plus haut sur l'estran (avec *Gibbula umbilicalis*, *Littorina saxatilis*).

Mots clés : peuplements malacologiques, comblement, Marais poitevin

HOLOCENOUS MALCOLOGICAL ASSOCIATIONS HAVING CONTRIBUTED IN THE FILLING UP OF THE ACTUAL "MARAIS POITEVIN" (VENDEE AND CHARENTE-MARITIME)

Four cores have been sampled in the "marais poitevin" : one of them in the east of Charron, another one near Pied-Lizet and the others near Maillezais. Pieces of shells of different species have been numbered and weighted. Ranks frequencies diagrams show the malacological associations homogeneity and diversity. The factorial analysis on the absences-presences makes clear an ecological gradiant from the most marine associations to the most superficial and finally land associations.

Keywords : malacological association, filling up, Marais poitevin

10

LES NODULES RENAUX DE *LYMNAEA TRUNCATULA* MÜLLER. A PROPOS DE QUELQUES OBSERVATIONS LORS D'INFESTATIONS SIMPLES ET DOUBLES DU MOLLUSQUE PAR PLUSIEURS PARASITES (*FASCIOLA HEPATICA* L., *MUELLERIUS CAPILLARIS* MÜLLER, *NEOSTRONGYLUS LINEARIS* MAROTEL)

HOURDIN P. et RONDELAUD D.

Faculté de Médecine, 2, rue du Docteur-Raymond-Marcland, 87025 LIMOGES Cédex

Deux types de nodules sont présents dans le rein de *Lymneaea truncatula* lors d'une infestation par un ou deux parasites : a) des formations rondes, mesurant 40 à 60 µm en moyenne, et b) des nodules ovoïdes avec des dimensions plus importantes (110 µm de longueur moyenne, 68 µm de largeur). La plupart de ces formations sont libres dans la lumière de l'organe. Les autres sont fixées à la paroi de l'organe et parfois recouvertes d'un épithélium de type rénal. La signification de ces nodules est discutée en relation avec l'infestation de *L.truncatula* par les parasites précités.

Mots clés : nodules rénaux, *Lymnaea truncatual*, infestation parasitaire

THE RENAL NODULES OF *LYMNAEA TRUNCATULA* MÜLLER. A REPORT OF SEVERAL OBSERVATIONS DURING SINGLE AND DUAL INFECTIONS OF THE SNAIL BY THREE PARASITES (*FASCIOLA HEPATICA* L., *MUELLERIUS CAPILLARIS* MÜLLER, *NEOSTRONGYLUS LINEARIS* MAROTEL)

Two types of nodules have been observed in the kidney of Lymnaea truncatula *infected by one or two parasite species : a) round formations, 40 to 60µm in mean diameter, and b) ovoid nodules with higher dimensions (110 µm in mean length, 68 µm in width). Most of these formations were independent in the renal lumen. The others were fixed to the renal wall and were sometimes recovered by a renal-type epithelium. The significance of these nodules was discussed in relation to the infection of* L. truncatula *by sus-mentionned parasites.*

Keywords : renal nodules, *Lymnaea truncatula*, parasitic infection

11

ETUDE EXPERIMENTALE PRELIMINAIRE SUR LES ECHANGES GAZEUX CHEZ *PINNA NOBILIS*

VICENTE N.[1], RIVA A.[1] et BUTLER A.[2]

[1] *CERAM - Faculté des Sciences et Techniques de Saint-Jérôme 13397 MARSEILLE Cédex 13 et Fondation Océanographique RICARD, Ile des Embiez - 83140 SIX-FOUR-LES-PLAGES*

[2] *Department of Zoology - University of Adelaide ADELAIDE (S.Australia)*

Les échanges gazeux chez *Pinna nobilis* L. sont étudiés *in situ* et au laboratoire à l'aide de deux méthodes. La première consiste à placer des individus sous une cloche de plexiglass équipée de robinets. Cette cloche d'une capacité de 40l est mis en place en plongée. La consommation d'oxygène est suivie par prélèvement d'eau à intervalles de temps réguliers et la concentration est mesurée avec un oxymètre électronique. Les expériences qui portent sur des cycles nycthéméraux sont reproduites au laboratoire avec le même type de cloche. Une deuxième méthode met en oeuvre un appareillage plus complet, faisant circuler un courant d'eau dans une cellule hermétique thermostatée où l'on introduit un spécimen de jeune *Pinna* que l'on adapte progressivement aux conditions du milieu. Les phénomènes respiratoires sont suivis sur des laps de temps plus courts, en faisant varier la température. Ces deux méthodes complémentaires montrent que le métabolisme standard de ce grand bivalve est assez bas par comparaison avec d'autres (huîtres, palourdes) et que la consommation d'oxygène augmente avec la température.

Mots clés : échanges gazeux, *Pinna nobilis*, mollusque bivalve

PRELIMINARY STUDY ON BREATHING EXCHANGES IN *PINNA NOBILIS*

Breathing exchanges of Pinna nobilis *L. are studied* in situ *and in the laboratory with two methods. First method consist in introducing samples of* Pinna *under a 40l plexiglass bell equiped with haps. The bell is positionned by diving. The consumption of oxygen is observed with water samples and the oxygen concentration is measured with an electronic oxymeter. Experiments which are carried out during nycthemeral cycles are reproduced in the laboratory with the same type of bell. A second method carry into effect an apparatus more sophisticated, who put into circulation a current of water in an airtight thermostated cellule, where a specimen of young* Pinna *is introduced. This sample is gradualy adaptated to the conditions of the medium. Breathing phenomenon are studied lapses of time shorter, making variations of temperature. Both complementary methods show that the standard metabolism of this big bivalves is too less by comparison with other bivalves (oyster, clam), and that the consumption of oxygen increases with temperature.*

Keywords : breathing exchanges, *Pinna nobilis*, bivalve mollusc

LISTE DES PARTICIPANTS

ALDANA-ARANDA Dalila, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN Unidad Mérida, C.P. 97310, A.P. 73 "Cordemex" Yucatan, México.

AUFFRET Michel, Laboratoire de Biologie Marine, UBO-IEM, Faculté des Sciences, 6, Av. Le Gorgeu , 29287 Brest Cédex.

BACHER Cédric, IFREMER LEC, BP 133, 17390 La Tremblade.

BARILLE Laurent, IFREMER LEC, BP 133, 17390 La Tremblade.

BARRET Jean, IFREMER-Brest, B.P. 70, 29280 Plouzané.

BARTHELEMY Guillaume, IFREMER, 56470 La Trinité sur Mer.

BAUD Jean-Pierre, IFREMER, Polder des Champs, 85230 Bouin.

BEAUMONT Andy, School of Ocean Sciences, University College North Wales, Menai Bridge, Anglesey, Gwynedd, LL59SEY, North Wales, (Grande Bretagne).

BENMERADI Nacer E., Laboratoire de Biologie et Ecologie Marine. I.S.N. USTHB BP N°9, Dar El Beida, Alger (Algérie).

BLANC Alain, Faculté des Sciences et Techniques, Laboratoire de Biologie Animale et Appliquée, 23 rue Michelon, 42034 St-Etienne Cédex 02.

BLANC Françoise, Laboratoire de Zoogéographie Génétique, Université de Montpellier 3, BP 5043, 34032 Montpellier Cédex 1.

BLANCHARD Michel, IFREMER, Centre de Brest BP 70, 29280 Plouzané.

BODOY Alain, IFREMER, BP 133, 17390 La Tremblade.

BOUCHET Philippe, Muséum National d'Histoire Naturelle, 55 rue Buffon, 75005 Paris.

BOUGRIER Serge, IFREMER LEC, BP 133, 17390 La Tremblade.

BOUKROUFA Faycal, Université des Sciences et de la Technologie H. Boumédienne. Laboratoire de Biologie Marine, ISN-USTHB, El-Alia, Bab Essouar, BP.39, Alger (Algérie).

CANCELO BAQUERO Maria, Delegacion Provincial Conselleria Pesca, Casa del Mar 5a Planta. La Coruña (Espagne).

CIGARRIA ALVAREZ Juan M, San Pedro Mestallon n°11 5° H, Oviedo Asturias, (Espagne).

COCHARD Jean-Claude, IFREMER Centre de BREST, BP 70, 29280 Plouzané.

COLLIN Françoise, Laboratoire de Zoologie IBBA , Université de Caen, 14032 Caen Cédex.

COSTIL-FLEURY Katherine, Laboratoire de Zoologie générale et Ecophysiologie. Université de Rennes1. Avenue du Général Leclerc, Campus Beaulieu, 35042 Rennes Cédex.

DAGUZAN Jacques, Université de Rennes I. Laboratoire de Zoologie générale et Ecophysiologie, Avenue du Général Leclerc Campus Beaulieu, 35042 Rennes Cédex.

DAO Jean-Claude, IFREMER, Centre de Brest, BP 70, 29280 Plouzané.

DE SMET W.H., Rÿksuniversitair Centrum Antwerpen, Algemene Biologie. R.V.C.A.,Groenenborgerlaan, 171, B.2020 Antwerpen (Belgique).

DELAUNAY Franck, IFREMER Centre de BREST, BP 70, 29280 Plouzané.

DELAY Bernard, Institut des Sciences de l'Evolution, Case O64, USTL, Place E. Bataillon, 34095 Montpellier Cédex 05.

DESLOUS-PAOLI Jean Marc, IFREMER, 1 rue Jean Vilar 34200 Sète.

DEVAUCHELLE Nicole, IFREMER Centre de BREST, BP 70, 29280 Plouzané.

DIOURIS Marcel, Laboratoire de Physiologie Végétale, U.B.O. 29287 Brest Cedex.

DJEDIAT Chakib, U.S.T.H.B., ISN, Laboratoire de Biologie Marine, BP 39 El Alia, Alger (Algérie).

DONVAL Anne, Laboratoire de Biologie Marine, UBO-IEM, Faculté des Sciences, 6, Av. le Gorgeu 29287 Brest Cédex.

DORANGE Germaine, Laboratoire de Biologie Marine, UBO-IEM, Faculté des Sciences, 6, Av. le Gorgeu, 29287 Brest Cédex.

DWIONO Sigit, Laboratoire de Biologie Marine, UBO-IEM, Faculté des Sciences, 6, Av. le Gorgeu, 29287 Brest Cédex.

ESPINOS Fransisco, CUMARSA, Punta Moreiva - Resovedo, El Grove, Pontevedra (Espagne).

FAURE Catherine, IFREMER, Centre de BREST, BP 70, 29280 Plouzané.

FARIAS MOLINA Ana M, Instituto de Acuicultura de Torre de la Sal (CSIC) Ribera de Cabanes, 12595 Castellon (Espagne).

FELGUERES FERNANDEZ Carlos, Pando-Tornoin, 3316 Villaviciosa, Asturias (Espagne).

FERNANDEZ OTERO Juan, Oficina Peréférica, Conselleria Pesca. Alto da Rosa. Carril, 36.600 Vilargarcia de Arousa, Pontevedra (Espagne).

FINET Yves, Muséum d'Histoire Naturelle, Case postale 434. CH 1211, Genève 6 (Suisse).

FLASSCH Jean-Pierre, IFREMER-Nantes, Laboratoire d'Aquaculture, rue de l'Ile d'Yeu , 44037 Nantes Cédex 01.

FLEURY Pierre-G., IFREMER Centre de BREST, BP 70, 29280 Plouzané.

FRETON Eveline, Faculté des Sciences - Laboratoire d'Ecophysiologie Bd de Safi, Marrakech (Maroc).

GAILLARD Jean, Muséum National d'Histoire Naturelle, 29, rue Boussingault,75013 Paris.

GILLES Sylvain, ORSTOM, Ziguinchor, Sénégal.

GIMAZANE Jean-P., Laboratoire de Zoologie IBBA - Université de Caen, 14032 Caen Cédex.

GLEMAREC Michel, Laboratoire d'Océanographie Biologique. IEM, Faculté des Sciences, 6, Avenue Le Gorgeu, 29287 Brest Cédex.

GOFAS Serge, Muséum National d'Histoire Naturelle - Malacologie, 55, rue Buffon, 75005 Paris.

GOULLETQUER Philippe, CBL, Box 38, Solomons, Maryland 20688-0038, USA.

GRUET Yves, Université de Nantes, Faculté des Sciences, Laboratoire de Biologie Marine, 2, rue de la Houssinière, 44072 Nantes Cédex 03.

GUERRA DIAZ Alejandro, Centro Experimental de Vilaxoan. Conselleria de Pesca. Apdo. 208, Vilagarcia de Arousa - Pontevedra (Espagne).

GUILLER Annick, Université de Rennes I. Avenue du Général Leclerc - Campus Beaulieu, 35042 Rennes Cédex.

GUILLOU Jacques, Laboratoire d'Océanographie Biologique. IEM, Faculté des Sciences, 6, Avenue Le Gorgeu, 29287 Brest Cédex.

HENRY Monique, SCEM - Centre de Biologie et Physiologie Cellulaire BP C41 Faculté St Jérôme, 13397 Marseille Cédex 13.

HERAL Maurice, IFREMER LEC BP 133, 17390 La Tremblade.

HERRY Angèle, Laboratoire de Biologie Marine, UBO-IEM, Faculté des Sciences 6, Avenue le Gorgeu 29287, Brest Cédex.

HOMMAY Gérard, Laboratoire de Zoologie, INRA, 2, rue de Herrlivheim 68021, Colmar Cédex.

JORDI RIERA IRENTER, Travessera de Gracia N°32, 3° 4°, 08021 Barcelona (Espagne).

LAMBERT Marie C., Université de Rennes I. Avenue du Général Leclerc, Campus Beaulieu, 35042 Rennes Cédex.

LE BEC Claude, IFREMER, 12, rue des Résistants, 56470 La Trinité/Mer.

LE BOUQUIN Sophie, Ecole Vétérinaire de Nantes, Aquaculture et Pathologie Aquacoles, BP 3013, 40087 Nantes Cédex 03.

LE BRETON Jacques, Laboratoire de Zoologie, Université de Caen, 14032 Caen Cédex.

LE BRIS Hervé, Ecole Vétérinaire de Nantes, Aquaculture et Pathologie Aquacoles - CP 3013, 40087 Nantes Cédex 03.

LE PENNEC Marcel, Laboratoire de Biologie Marine, UBO-IEM Faculté des Sciences 6, Avenue Le Gorgeu, 29287 Brest Cédex.

LEFORT Yves, ORSTOM, Nouméa B.P. A5, Nouvelle Calédonie.

LORVELEC Olivier, Laboratoire de Zoologie et d'Ecophysiologie. Université de Rennes I, Avenue du Général Leclerc, 35042 Rennes Cédex.

LUBET Pierre, Laboratoire de Zoologie IBBA , Université de Caen, 14032 Caen Cédex.

LUCAS Albert, Laboratoire de Biologie Marine, UBO-IEM, Faculté des Sciences 6, Avenue Le Gorgeu, 29287 Brest Cédex.

MAES Philippe, Laboratoire de Biologie Marine, UBO-IEM, Faculté des Sciences 6, Avenue Le Gorgeu, 29287 Brest Cédex.

MADEC Luc, Laboratoire de Zoologie et d'Ecophysiologie. Université de Rennes I, Avenue du Général Leclerc, 35042 Rennes Cédex.

MARTIN Jean-Louis, CREMA, L'Houmeau.

MARTINEZ Jean-Claude, Laboratoire de Biologie Marine, UBO-IEM 6, Avenue Le Gorgeu, 29287 Brest Cédex.

MAURER Danièle, IFREMER, Quai du Commandant Silhouette, 33120 Arcachon.

MAZURIE Joseph, IFREMER, 12, rue des Résistants, BP 26, 56470 La Trinité/Mer.

MENDEZ FELPETO Josefina, Universidad de la Coruña, Dpto de Biologia Celular y Molecular. Area de genetica, 15071 La Coruña (Espagne).

METIVIER Bernard, Muséum National d'Histoire Naturelle, Laboratoire de Biologie des Invertébrés Marins et Malacologie, 55 rue Buffon, 75005 Paris.

MOAL Jeanne, IFREMER, Centre de BREST, BP 70, 29280 Plouzané.

MORAGA Dario, Laboratoire de Biologie Marine, UBO-IEM, Faculté des Sciences, 6, Avenue Le Gorgeu, 29287 Brest Cédex.

MOUEZA Marcel, Maison de l'Aigle Leroux. F 97190 Gosier, Guadeloupe E.W.I.

NICOLAS Jean-Louis, IFREMER, Centre de BREST BP 70, 29280, Plouzané

OUMOUNA Mustapha, Institut Vétérinaire, Université de Blida El Soumaa, Blida (Algérie).

PAILLARD Christine, Laboratoire de Biologie Marine, UBO-IEM, Faculté des Sciences, 6, Avenue Le Gorgeu, 29287 Brest Cédex.

PARACHE Alain, Lycée de la Mer et du Littoral, Route du Viaduc, 17560 Bourcefranc.

PAULET Yves Marie, Laboratoire de Biologie Marine, UBO-IEM, Faculté des Sciences, 6, Avenue Le Gorgeu, 29287 Brest Cédex.

PIGEOT Jacques, Lycée de la Mer et du Littoral, Route du Viaduc, 17560 Bourcefranc.

PINCSON DU SEL G., Université de Rennes I, Station de Biologie marine de l'île de Bailleron, 56860, Séné.

PLANA Stéphanie, Laboratoire de Biologie Marine, UBO-IEM, Faculté des Sciences 6, Avenue Le Gorgeu, 29287 Brest Cédex.

POIZAT Claude, Centre d'Etude des Ressources Animales Marines (CERAM) Faculté des Sciences et Techniques de St Jérôme, 13013 Marseille.

PROU Jean, IFREMER BP 133, 17390 La Tremblade.

RAZET Daniel, IFREMER BP 133, 17390 La Tremblade.

REAL Anne Marie, Muséum National d'Histoire Naturelle, Laboratoire de Biologie des Invertébrés marins et Malacologie, 55 rue de Buffon, 75005 Paris.

RICHARD Georges, Muséum National d'Histoire Naturelle, Laboratoire de Biologie des Invertébrés Marins et Malacologie, 55 rue Buffon, 75005, Paris

RIVA Alain, Fondation Océanographique Ricard. Ile des Embiez, 83140 Six-Fours-Les-Plages.

ROBERT René, IFREMER, Quai du Commandant Silhouette, 33120 Arcachon.

RODRIGUEZ GONZALEZ Juan José, Camiño Do Casal 23-A- Villajuan, Villagarcia, Pontevedra, (Espagne).

RODRIGUEZ VASQUEZ José A., Departamento de Quimica, F. de Ciencias, Universidad de Vigo, Aptdo. 874, 36200 Vigo (Espagne).

RODRIGUEZ Xan, CUMARSA, Punta Moreiva - Resovedo El Grove Pontevedra (Espagne).

RONDELAUD Daniel, Faculté de Médecine, 2, rue du Docteur Marcland, 87025 Limoges Cédex.

SAMAIN Jean-François, IFREMER, Centre de BREST, BP.70, 29280 Plouzané.

SAURIAU Pierre-Guy, Laboratoire de Biologie Marine, Faculté des Sciences, 2, rue Houssinière, 44072 Nantes Cédex 03.

SINQUIN Gérard, Laboratoire de Biologie Marine, UBO-IEM, Faculté des Sciences, 6, Avenue Le Gorgeu, 29287 Brest Cédex.

SOEGONO Dinar, Laboratoire de Biologie Marine, UBO-IEM, Faculté des Sciences, 6, Avenue Le Gorgeu, 29287 Brest Cédex.

TARDY Jean, Laboratoire de Biologie, Biochimie Marines, IUT, La Rochelle, rue de Roux, 17026 La Rochelle Cédex.

TRONDLE Jean, Girounet , 24130 La Force.

VAN ROMPU E., Rŷksuniversitair Centrum Antwerpen, Algemene Biologie. R.V.C.A.,Groenenborgerlaan, 171, B.2020 Antwerpen (Belgique).

VARELA SANTIBAÑEZ Carlos, Instituto Profesional de Osorno, Osorno. (Chili).

VICENTE Nardo, Centre d'Etudes de Ressources Animales Marines (CERAM), Faculté des Sciences et Techniques St Jérôme, 13013 Marseille.

WIDOWATI Ita, Laboratoire de Biologie Marine, UBO-IEM, Faculté des Sciences, 6, Avenue Le Gorgeu, 29287 Brest Cédex.

WOLOWICZ Maciej, Université de Gdansk, Pitsuolskiego 46, 81378 GDYNIA (Pologne) (Actuelle : IFREMER, 1, rue Jean Vilar 34200 Sète).

ZANETTE Yvon, C R E A A. Prise de Terdoux, 17480 Le Chateau d'Oléron.

BIBL. DU MUSÉUM PARIS

COMITE DE LECTURE

Michel AUFFRET	**Faculté des Sciences, Laboratoire de Biologie Marine, 29287 Brest Cédex.**
Peter BENINGER	**Université de Moncton, Département de Biologie, Moncton, Canada.**
Alain BODOY	**IFREMER, BP 133, 17390, La Tremblade.**
Pierre CHARDY	**IFREMER, BP 70, 29280, Plouzané.**
Jean-M. DESLOUS-PAOLI	**IFREMER, BP 70, 29280, Plouzané.**
Jacques DAGUZAN	**Faculté des Sciences, Laboratoire de Zoologie générale et Ecophysiologie, 35042 Rennes Cédex.**
Germaine DORANGE	**Faculté des Sciences, Laboratoire de Biologie Marine, 29287 Brest Cédex.**
Michel GLEMAREC	**Faculté des Sciences, Laboratoire d'Océanographie Biologique, 29287 Brest Cédex.**
Jacques GUILLOU	**Faculté des Sciences, Laboratoire d'Océanographie Biologique, 29287 Brest Cédex.**
Maurice HERAL	**IFREMER, BP 133, 17390, La Tremblade.**
Monique HENRY	**SCEM et CERAM. Faculté des Sciences et Techniques de St-Jérôme, 13397 Marseille Cédex 13.**
Jacques LE BRETON	**Faculté des Sciences, Laboratoire de Zoologie, 14000 Caen.**
Marcel LE PENNEC	**Faculté des Sciences, Laboratoire de Biologie Marine, 29287 Brest Cédex.**
Claude POIZAT	**CERAM. Faculté des Sciences et Techniques de St-Jérôme, 13397 Marseille Cédex 13.**
Jean TARDY	**IUT. Laboratoire de Biologie, Biochimie Marines, 17026 La Rochelle Cédex.**
Nardo VICENTE	**CERAM. Faculté des Sciences et Techniques de St-Jérôme, 13397 Marseille Cédex 13.**

Reproduit par INSTAPRINT S.A.
1-2-3, levée de la Loire – LA RICHE – B.P. 5927 – 37059 TOURS Cedex
Tél. 47 38 16 04

Dépôt légal 1er trimestre 1992

4 NOV. 1993

Le VIII[ème] congrès national de la Société Française de Malacologie s'est tenu à Brest les 7 et 8 novembre 1990. Le thème proposé : "Aspects récents de la biologie des Mollusques" a permis de réunir 150 scientifiques français et étrangers. 16 communications ont été présentées et 11 posters commentés.

Les principaux thèmes abordés ont concerné divers aspects de la biologie : cytologie, système hémolymphatique, maturation ovocytaire, reproduction, recrutement, relations hôtes-parasites ; de la physiologie : bilan énergétique, réserves énergétiques et de la génétique : spéciation..., chez les Mollusques marins, dulcicoles et terrestres.

The 8th national congress of the "French Malacological Society" was held in Brest, on November 7 and 8, 1990. The proposed theme : "Recent Aspects in Moluscan biology" brought together 150 french and foreign scientists. 16 communications were presented and 11 posters were discussed.

The main topics of discussion focused on various aspects of the biology, among these : cell ultrastructure, the lymphatic system, ovocytic maturation, reproduction, recruitment, parasite-host relationships ; the physiology : energetic balance, energy reserves, and genetic : speciation..., of marine, freshwater and terrestrial molluscs.

Service de la Documentation et des Publications (S D P)
IFREMER - Centre de Brest
B.P. 70 - 29280 PLOUZANÉ
Tél. 98 22 40 13 - Telex 940 627 F

IFREMER

ISSN : 0761 3962

© Institut Français de Recherche pour l'Exploitation de la Mer, 1991